

UNTERSUCHUNGEN
ZUM VITAMIN C-BEDARF
ERWACHSENER KRALLENAFFEN
DER SPEZIES CALLITHRIX JACCHUS

Manfred Kern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554614_0019

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. H. Zucker

**UNTERSUCHUNGEN ZUM VITAMIN C-BEDARF
ERWACHSENER KRALLENAFFEN
DER SPEZIES CALLITHRIX JACCHUS**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Manfred Kern

aus Erbach

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Dekan:	Prof. Dr. H. Zucker
Referent:	Prof. Dr. H. Zucker
Korreferent:	Prof. Dr. R. Schulz

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

SEITE

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	4
2.1	Vitamin C-Bedarf von Primaten	4
2.2	Vitamin C-Mangel bei verschiedenen Affenarten	5
2.2.1	Experimentell erzeugter Mangel	5
2.2.2	Spontan aufgetretener Vitamin C-Mangel in Koloniehaltungen	7
2.3	Vitamin C und Stress	8
2.4	Vitamin C-Gehalt im Serum von Krallenaffen	10
2.5	Vitamin C-Stoffwechsel	10
2.6	Vitamin C-Nachweis	13
	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
3	Material und Methoden	14
3.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	14
3.2	Versuchsplanung	15
3.3	Versuchsdurchführung	20
3.4	Geräte, Reagentien und Diätplan	23
3.5	Analytische Methoden	26
4	ERGEBNISSE	26
4.1	Versuch 1	26
4.1.1	Depletion	29
4.1.2	Repletion	39
4.2	Versuch 2, Verschiedener Vitamin C-Gehalt der Diät	48
4.3	Versuch 3, Kolonieuntersuchungen	52
5	DISKUSSION und SCHLUSSFOLGERUNGEN	63
6	ZUSAMMENFASSUNG, SUMMARY	65
7	LITERATURVERZEICHNIS	

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Krallenaffen, besonders das Weißbüscheläffchen (*Callithrix jacchus*, Fam. Callitrichidae) haben in den letzten Jahren weltweit große Bedeutung in der medizinischen Forschung erlangt. In steigendem Maße werden sie in der Virologie, der Pharmakologie und Toxikologie sowie in der Reproduktionsforschung als Versuchstiere eingesetzt. Dafür bieten Krallenaffen viele Vorteile. Sie sind leicht zu halten und zu züchten und besitzen eine hohe Reproduktionsrate. Sie haben eine herabgesetzte immunologische Kompetenz, sind für einige humanpathogene Viren empfänglich und haben einen gemessen an anderen Primaten, niedrigen Intelligenzgrad. Um die Tiere für alle an sie gestellten Anforderungen von Zucht und Tierversuch optimal zu ernähren, ist eine genaue Kenntnis des Bedarfs aller Nährstoffe nötig. Nicht zuletzt, um aus dem Tierversuch aussagefähige Ergebnisse zu erhalten.

Im Laufe der Evolution haben die Primaten aufgrund eines Verlustes der Leberenzyme D-Gulonsäure- γ -lacton-Reductase, L-Gulonsäure- γ -lacton-Oxidase und Aldonolactonase die Fähigkeit zur Vitamin C-Eigensynthese verloren. Ausnahmen hiervon machen die Halbaffen Spitzhörnchen (*Tupaia glis*, Fam. Tupaiidae) und Plumplori (*Nycticebus coucang*, Fam. Lorisidae), für die ELLIOT et al. (1966) nachgewiesen haben, daß sie Vitamin C-autotroph sind. Krallenaffen gehören zu den kleinen Neuweltprimaten und werden in der Klassifikation an den Anfang der Primatenordnung gestellt (NAPIER und NAPIER, 1967, RICHTER et al., 1984). Bisher war nicht mit Sicherheit geklärt, ob sie Vitamin C selbst synthetisieren können oder als essentiellen Bestandteil ihrer Ernährung brauchen.

In freier Wildbahn, in den tropischen und subtropischen Wäldern Südamerikas, ernähren sich Krallenaffen als Omnivoren von Früchten, Nüssen, Blättern, Insekten, kleinen Wirbeltieren und Vogeleiern. Ihren Flüssigkeitsbedarf decken sie durch Auflecken von Regentropfen, Pflanzensäften und durch den Wassergehalt ihrer Nahrung (NAPIER und NAPIER, 1967). Ein Mangel an Vitamin C in dieser reichhaltigen Nahrungsgrundlage kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden. In Gefangenschaft werden diese Neuweltprimaten meist mit einer standardisierten Basisdiät ernährt, der die nötigen Vitamine reichlich zugesetzt sind. Die Diät der Kolonietiere und der Versuchstiere des Max von Pettenkofer-Institutes enthält 2000 ppm Ascorbinsäure. Dies entspricht, verglichen mit Angaben aus der Literatur, einer sehr hohen Vitamin C-Versorgung.

Beim Menschen sind die Symptome der Vitamin C-Mangelkrankheit Skorbut Gingivitis, Hämorrhagien, Hämaturie, Melänie, Metrorrhagien, subperiostale und intramuskuläre Hämatome, Schmerzen der Extremitäten, herabgesetzte Infektionsabwehr sowie mangelhafte Wundheilung und Knochenbildung aufgrund gestörter Kollagensynthese.

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob Krallenaffen ihren Vitamin C-Bedarf durch Eigensynthese decken und, falls Ascorbinsäure essentieller Nahrungsbestandteil sein sollte, die tägliche Zufuhr zu ermitteln, die Mangelercheinungen verhütet. Zusätzlich sollte die optimale Vitamin C-Versorgung untersucht werden, die den speziellen Anforderungen in der Versuchstierhaltung entspricht, da der Bedarf in Gefangenschaft unter den Haltungsbedingungen von Versuchstierlaboratorien und Zuchtcolonien aufgrund höherer Leistungsanforderungen und vermehrtem Stress mit Sicherheit höher als in freier Wildbahn einzuschätzen ist.

Durch eine Vitamin C-Depletion sollte die Symptomatik eines Vitamin C-Mangels erzeugt und es sollte erforscht werden, anhand welcher Parameter (Blut- oder Serum-Vitamin C-Spiegel, Harn-Vitamin C-Ausscheidung, klinische Symptomatik) bei dieser Spezies ein Vitamin C-Mangel diagnostiziert werden kann.

Es wurde auch der Frage nachgegangen, ob Vitamin C-Mangel an der Entstehung des "Wasting Marmoset Syndroms" beteiligt sein kann und ob es zwischen den einzelnen Krallenaffen-spezies Unterschiede im Vitamin C-Stoffwechsel und Vitamin C-Bedarf gibt.

2 LITERATUROBERSICHT.

2.1 Vitamin C-Bedarf von Primaten

Über den Vitamin C-Bedarf von Primaten gibt es sehr verschiedene Angaben in der Literatur. DE KLERK et al. (1973a) geben 1 mg Vitamin C pro kg KM und Tag als Minimalbedarf für Affen an. Für Grüne Meerkatzen (*Cercopithecus aethiops*) empfehlen sie den Vitamin C-Gehalt der Nahrung so hoch zu bemessen, daß er in der Lage ist, bei den Tieren einen Serum-Vitamin C-Spiegel von mehr als 1 mg/100 ml zu erzeugen. HORNIG et al. (1983) geben den Vitamin C-Bedarf von Primaten mit 3 mg - 6 mg/kg KM und Tag an. Für Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) geben LEHNER et al. (1968) 10 mg/kg KM und DE KLERK et al. (1973a) 20 mg/kg KM und Tag als ausreichende Vitamin C-Versorgung an, und MACHLIN et al. (1979) den Bedarf von Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) mit 10 mg/kg KM. ALVARES et al. (1981) berichten, daß eine Diät mit 130 ppm Ascorbinsäure Makaken (*Macaca fascicularis*) vor Vitamin C-Mangel schützt. Sie halten eine Diät, die 2000 ppm Vitamin C enthält, für eine optimale Versorgung von Affen. BRACK (1984) gibt als Vitamin C-Erhaltungsdosis 4 mg/kg KM und Tag und als therapeutische Dosis 25 mg/kg KM und Tag für alle Affen an.

Der Minimalbedarf des Menschen liegt laut BAKER et al. (1969) bei 5 mg - 10 mg Vitamin C/Tag. KALLNER et al. (1979) halten die tägliche Zufuhr von 100 mg Vitamin C für den gesunden Menschen und KALLNER et al. (1981) 140 mg für Raucher für ausreichend.

2.2 Vitamin C-Mangel bei verschiedenen Affenarten.

2.2.1 Experimentell erzeugter Mangel.

Über experimentellen Vitamin C-Mangel bei Totenkopffaffen berichten LEHNER et al. (1968). Sie depletierten 6 Affen für 3 Monate und 2 Affen 4 Monate lang an Vitamin C, töteten alle Tiere und untersuchten sie pathologisch-anatomisch. Drei Monate lang konnten an den Affen keine äußeren Symptome von Skorbut festgestellt werden. Der Hämatokrit sank von 42 % im 2. Versuchsmonat auf 26 % im 3. Monat ab. Im 4. Versuchsmonat traten bei den 2 Tieren, die weiter ascorbinsäurefrei ernährt worden waren, Gewichtsverlust und subperiostale Schädelhämatome auf. Die Affen wurden zunehmend debil und ihr Hämatokrit sank auf 14 %. Die Sektion ergab deutliche Symptome eines Vitamin C-Mangels. Die 4 Affen, die ab dem 3. Monat wieder täglich 10 mg Vitamin C /kg KM erhielten, erholten sich gut, nahmen aber noch leicht an Körpergewicht ab. Der durchschnittliche Serum-Vitamin C-Gehalt fiel bei den 6 Affen von 0,67 mg/100 ml zu Versuchsbeginn auf 0,13 mg/100 ml nach 3 Monaten ab. Ein Vitamin C-Serumspiegel von 0,70 mg/100 ml wird von den Autoren als Normalwert für Totenkopffaffen angegeben.

MACHLIN et al. (1979) beschreiben experimentell erzeugten Skorbut bei Rhesusaffen. Nach 70 bis 105 Versuchstagen zeigten sich bei den Tieren die klinischen Symptome Gewichtsverlust, Anämie, Zahnfleischbluten, Palatinitis, Durchfall und Unvermögen zu stehen. Alle Symptome konnten durch die tägliche Gabe von 10 mg/kg KM L-Ascorbinsäuremagnesiumsalz vollkommen geheilt werden.

ALVARES et al. (1981) berichten, daß in einem Versuch mit jungen Makaken (*Macaca fascicularis*) nach einer Vitamin C-freien Fütterung von 9 Wochen und daran anschließender Fütterung mit einer Diät, deren Vitamin C-Gehalt nur 130 ppm betrug, zu keinem Zeitpunkt Anzeichen eines Mangels auftraten. Die Vitamin C-Spiegel im Vollblut der Versuchstiere waren nach 2 Wochen auf 70 % und nach 7 Wochen auf 14 % des Ausgangswertes abgefallen. Eine Kontrollgruppe erhielt 2000 ppm Vitamin C in der Diät.

McINTOSH et al. (1981) versuchten bei 4 Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus* Vitamin C-Mangel zu erzeugen. Sie ernährten 4 Affen 3 Monate lang und 2 davon sogar 4 Monate lang mit einer aus dem Handel bezogenen Vitamin C-freien Affendiät. Sie konnten aber zu keiner Zeit Symptome von Vitamin C-Mangel an den Tieren feststellen. Auch überprüften sie die Depletionsdiät nicht auf die vom Hersteller angegebene völlige Vitamin C-Freiheit. Zur Bestimmung des Vitamin C-Status der "depletierten" Affen wurde von ihnen eine vollkommen unzulängliche Methode gewählt. Sie analysierten nach einem Monat "Depletion" 7-Stunden-Harn auf seinen Vitamin C-Gehalt, bestimmten aber zu keiner Zeit Serumkonzentration oder Gesamtblutspiegel. Sie fanden im 7-Stunden-Harn der Versuchs- und der Kontrolltiere nach einem Versuchsmonat noch deutliche Vitamin C-Konzentrationen. Die Kontrolltiere erhielten zusätzlich zur Depletionsdiät täglich eine einmalige orale Dosis von 100 mg Vitamin C.

2.2.2 Spontan aufgetretener Vitamin C-Mangel in Koloniehaltungen.

KESSLER (1980) beschreibt bei 8 Totenkopffäffchen im Alter von ca. 16 Monaten das spontane Auftreten von Cephalohämatomen als Symptome eines Vitamin C-Mangels. Als Ursache für diesen Mangel ermittelte KESSLER starken Vitamin C-Verlust im Koloniefutter. Durch Transport und Lagerung sowie durch den raschen Futterverderb in den Futterautomaten der Aus-senkäfige aufgrund hoher Temperatur und Luftfeuchte, sank der Vitamin C-Gehalt des Futters schnell von 510 ppm im frischen Futter auf 20 ppm im Restfutter aus den Käfigen ab. Nachdem in der Kolonie reichlich frisches Obst zusätzlich verfüttert wurde, traten solche Erkrankungen nicht mehr auf.

Auch DEMARAY et al. (1978) berichten über einen vermutlichen Vitamin C-Mangel in einer Kolonie Totenkopffaffen. Den Anlaß zu diesem Verdacht gab das Auftreten von Cephalohämatomen bei 5 weiblichen Affen. In dieser Kolonie lagen die Serum-Vitamin C-Spiegel bei allen untersuchten Tieren über 0,70 mg/100 ml. Nur 1 Affe hatte einen Wert von 0,45 mg/100 ml. Alle hämatologischen Befunde waren normal. Eines der Tiere mit Cephalohämatomen verendete und 2 weitere wurden getötet; alle 3 wurden pathologisch-anatomisch untersucht. Bis auf leichte subperiostale Hämatome am Schädel, leichte, multifocale Petechien in Nebenniere, Thymus und Myocard bei einem Tier und Petechien in der Magenmucosa eines anderen Affen, wurden keine Hinweise auf eine skorbutische Erkrankung gefunden. Der Mangel an Vitamin C in der Nahrung resultierte aus der Angewohnheit der Affen, Futterbiskuits vor Verzehr in Wasser einzuweichen. Dabei

wurde das Vitamin C zu 96,5 % von der Biskuitoberfläche abgewaschen, auf die es bei der Futterherstellung im letzten Arbeitsgang aufgestäubt worden war.

DE KLERK et al. (1973a) stellten in einer Kolonie von 80 Grünen Meerkatzen bei 33 Tieren Veränderungen an der Maulschleimhaut fest. Davon hatten 25 fibröse Gingivahyperplasien und 4 zusätzlich Zahnfleischbluten. Die einzige Vitamin C-Quelle der Affen waren Äpfel und Bananen, deren Vitamin C-Gehalt normalerweise ausreicht, um einen Mangel zu verhüten. Die durchschnittliche Vitamin C-Aufnahme wurde von den Autoren auf 7 mg - 30 mg/Tier und Tag geschätzt. Die Mehrzahl der Affen, darunter alle mit Veränderungen an den Maulschleimhäuten, hatten Serum-Vitamin C-Werte unter 0,3 mg/100 ml bei einem durchschnittlichen Wert von $0,24 \text{ mg} \pm 0,28 \text{ mg/100 ml}$. Frisch gefangene Grüne Meerkatzen hatten im Vergleich dazu Serumwerte von $2,03 \text{ mg} \pm 0,56 \text{ mg/100 ml}$ (n=21). Die Maulveränderungen heilten ab, nachdem der Diät 20 mg Vitamin C pro Tier und Tag zugesetzt worden waren. Die am schwersten betroffenen Tiere konnten erst durch die Gabe von Multivitaminpräparaten geheilt werden. Die Autoren empfehlen, Affen so mit Vitamin C zu versorgen, daß sie Serumwerte von mehr als 1 mg/100 ml aufrechterhalten können.

2.3 Vitamin C und Stress

Durch psychische und physische Belastungen kann bei Affen sehr leicht Stress entstehen. Dadurch kommt es zu einer veränderten Stoffwechsellage und zu einem gesteigerten Vitamin C-Metabolismus und somit zu einem erhöhten Vitamin C-Bedarf.

Zu einem drastischen Abfall der Serum Vitamin C-Konzentrationen kam es bei 21 neu gefangenen Grünen Meerkatzen innerhalb der ersten 18 Gefangenschaftstage (DE KLERK et al., 1973a). Nach einer Eingewöhnungszeit von 2 Monaten konnten die Autoren durch induzierten Stress bei diesen Tieren erneut ein starkes Absinken der Serumspiegel erzielen. Die Autoren betonen, daß die Haltung von Affen in Gefangenschaft und zu experimentellen Zwecken deren Vitaminbedarf ansteigen läßt.

Auch bei Pavianen (*Papio ursinus*) kam es nach DE KLERK et al. (1973b) zu einem drastischen Absinken der Vitamin C-Serumkonzentrationen in den ersten Tagen nach dem Einfangen aus der Wildnis. Die Autoren versuchten in 3 Versuchsgruppen durch unterschiedliche Vitamin C-Versorgung (2 mg, 5mg und 10 mg/kg KM und Tag) diesem Konzentrationsabfall entgegenzuwirken, stellten aber bei allen 3 Gruppen eine deutlichen Abnahme der Serumspiegel fest. Die Gruppe mit der niedrigsten Versorgung zeigte dabei den deutlichsten Abfall. Gleichzeitig stiegen in allen 3 Gruppen die Serumcholesterinspiegel an. Beim Menschen sind Vitamin C-Serumspiegel und Serumcholesterinspiegel in gleicher Weise korreliert (GINTER et al., 1977). Chronischer Alkoholabusus (MAJUMDAR et al., 1981), Rauchen (KALLNER et al., 1981) sowie Krankheit (MURPHY et al., 1974), Gravidität und andere physische und psychische Belastungen führen ebenfalls zu einem erhöhten Vitamin C-Bedarf.

2.4 Vitamin C-Gehalt im Serum von Krallenaffen.

McNEES et al. (1983) geben als Mittelwert für den Vitamin C-Gehalt im Serum von *Callithrix jacchus* 0,98 mg/100 ml bei einer Streuung von 0,06 mg - 4,10mg/100 ml an (n= 168). Sie untersuchten in einer Krallenaffenkolonie 10 in Gefangenschaft geborene Tiere und 46 Wildfänge in 3 aufeinanderfolgenden Untersuchungen. Der Normalbereich wird von diesen Autoren mit 0,50 mg - 1,50 mg/100 ml Serum angegeben, weil die Mehrzahl der Einzelwerte in diesem Bereich lag. Bei 5 Affen wurden bei allen 3 Untersuchungen Serumkonzentrationen unter 0,20 mg/100 ml festgestellt, ohne daß diese Tiere irgendwelche Symptome eines Mangels zeigten. Die Autoren geben leider keine genauen Hinweise auf den Vitamin C-Gehalt der Koloniediät, sondern führen nur an, daß täglich frische Früchte zugefüttert wurden und daß deshalb kein Mangel an Vitamin C in der Nahrung vorliegen dürfte.

2.5 Vitamin C-Stoffwechsel

Die wichtigsten Wirkungen von Vitamin C beruhen auf seiner Eigenschaft als Antioxidans. Es ist am mikrosomalen Elektronentransport und an verschiedenen Hydroxylierungsreaktionen beteiligt, wobei heute noch nicht konkret geklärt ist, welche Stoffwechselprozesse Vitamin C-abhängig sind und welche Bedeutung dem Vitamin im Metabolismus zukommt. Vitamin C stimuliert die Immunabwehr (MURPHY et al., 1974), indem es verschiedene Funktionen der Leukozyten verstärkt. So wird die Motilität neutrophiler Granulozyten, die Phagozytosefähigkeit der Leukozyten, sowie die Reaktionsfähigkeit der Lymphozyten gegenüber Antigenen und Mitogenen gesteigert. Vitamin C übt auch einen positiven Einfluß auf

den Lipidstoffwechsel aus (DE KLERK et al., 1973b, GINTER et al., 1977). Sowohl Ascorbinsäure (AA) als auch ihr erstes Abbauprodukt Dehydroascorbinsäure (DHAA), besitzen volle Vitamin C-Wirksamkeit. Bei Mensch und Meerschweinchen wird AA aktiv aus dem Dünndarm resorbiert. Bis zu einer Aufnahme von 180 mg/Tag erfolgt beim Menschen die Resorption dosisproportional zu 78 % bis 88 % (KALLNER et al., 1977). Bei höheren Dosen nimmt der prozentual resorbierte Anteil stetig ab. Vitamin C wird im Blutplasma nur in sehr geringem Maße an Proteine gebunden und deshalb hauptsächlich frei transportiert. Die Ausscheidung von unmetabolisierter AA und ihrer Metaboliten (hauptsächlich DHAA, CO_2 und Oxalat), erfolgt speziesspezifisch über Harn, Kot und Atemluft. Beim Menschen geht der Hauptausscheidungsweg über die Niere, über die vor allem AA, DHAA und Oxalat ausgeschieden werden. Beim Meerschweinchen werden bis zu 66 % einer $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ Dosis als $1\text{-}^{14}\text{CO}_2$, 10 % im Urin und 1 % in den Fäces ausgeschieden (HORNIG et al., 1983).

Durch Stress jeglicher Art ist bei Makaken der Vitamin C-Metabolismus und damit der prozentuale Anteil der Metaboliten in den Ausscheidungen beeinflussbar (HORNIG et al., 1983). Bei Affen, die nicht an alle Versuchs- und Umweltbedingungen gewöhnt waren, wurden 20 % - 90 % einer $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ Dosis als $1\text{-}^{14}\text{CO}_2$ wiedergefunden. Bei Makaken, die an ihre Umwelt und alle experimentellen Bedingungen gewöhnt waren, stellte TILLOTSON (1978) fest, daß sie nur 2,5 % der oralen Gabe als $1\text{-}^{14}\text{CO}_2$ ausschieden. Unter diesen Bedingungen war die tägliche Ausscheidung von $1\text{-}^{14}\text{CO}_2$ nicht durch die aufgenommene Vitamin C-Menge oder den Vitamin C-Status der Tiere beeinflussbar.

TILLOTSON & O'CONNOR (1981) untersuchten den Ruhe-Vitamin C-Stoffwechsel von Rhesusaffen. Sie betonen, daß der an alle Umwelt- und Versuchsbedingungen gewöhnte Affe ein exzellentes Studienmodell für den Vitamin C-Stoffwechsel des Menschen darstellt.

TILLOTSON & McGOWN fanden 1981 vier Metaboliten von $1-^{14}\text{C}$ -AA im Harn von Rhesusaffen. Bei niedriger Versorgung waren 10 % bis 20 % des ^{14}C im Harn unmetabolisiertes Vitamin C und 25 % bis 48 % Oxalat. Der Anteil der ausgeschiedenen Vitamin C-Menge war abhängig von der Aufnahme und dem Vitamin C-Status der Affen. Bei hoher Vitamin C-Versorgung stieg der Anteil von unmetabolisiertem Vitamin C auf 75 % des ^{14}C im Harn, und der Oxalatanteil sank auf 7 % ab. Die beiden anderen Metaboliten wurden nicht näher bestimmt.

Die renale Ausscheidung von Ascorbinsäure ist abhängig vom Vitamin C-Serumspiegel und der glomerulären Filtrationsrate. Die tubuläre Rückresorption ist ein aktiver, sättigbarer Prozess (HORNIG et al., 1983). Die Nierenschwelle für Vitamin C liegt beim Menschen bei 0,8 mg - 0,9 mg/100 ml Serum (KALLNER et al., 1979).

Der Vitamin C-Gehalt der Leukozyten und besonders der Granulozyten ist der sicherste Parameter für den Gesamtkörpervorrat (TILLOTSON & O'CONNOR, 1980 und TURNBULL et al., 1981). Ihr Vitamin C-Gehalt fällt während einer Depletion nur langsam ab und erreicht Null erst kurz vor dem Einsetzen klinischer Symptome von Skorbut (TURNBULL et al., 1981). Zur Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes in Leukozyten benötigt man relativ große Blutmengen, um daraus genügend Leukozyten zu gewinnen. Bei Krallenaffen kann man maximal 5 ml Blut entnehmen, bei häufigerer Blutentnahme nur ca. 1 ml. In Gehirn, Nebennieren und Augenkammern werden bei

allen Tierarten sehr hohe Vitamin C-Konzentrationen gefunden. Die Leber hat eine hohe Stoffwechselrate für Vitamin C und verarmt deshalb bei einer Vitamin C-Depletion als erstes Organ.

2.6 Vitamin C-Nachweis

Der Vitamin C-Nachweis im Probenmaterial (Futter, Blutserum, Harn) ist am besten durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchzuführen (SAUBERLICH et al. 1982). An die Methode werden für unsere Untersuchungen folgende Anforderungen gestellt:

- Jede Art von Probenmaterial muß analysierbar sein.
- Die benötigte Probenmenge muß möglichst gering sein, da nur wenig Serum zur Verfügung steht.
- Die Nachweisgrenze für Vitamin C soll unter 1 ng/ml liegen.
- Die Probenvorbereitung soll möglichst einfach und ohne großen Materialaufwand durchzuführen sein.

Mehrere HPLC-Methoden die sich hinsichtlich des verwendeten Säulenmaterials, der Eluenten und Reagentien sowie ihrem Nachweisprinzip voneinander unterschieden, wurden auf diese Punkte hin überprüft. Der Hauptnachteil der von PACHLA und KISSINGER (1976) beschriebenen Methode bestand in ihrer zu hohen Nachweisgrenze und daß dazu, wie auch bei der Methode von TSAO und SALIMI (1981), ein elektrochemischer Detektor benötigt wird. Bei der von KEATING und HADDAD (1982) beschriebenen Methode werden zu große Probenmengen zur Analyse gebraucht. Die von SAUBERLICH et al. (1982) veröffentlichte Methode hatte lediglich den Nachteil, daß sie nicht zur Futtermittelanalyse geeignet war. Die Methode nach SCHÜEPP et al. (1983) konnte allen Anforderungen gerecht werden. Mit ihr kann allerdings nur die Gesamt-Vitamin C-Menge bestimmt werden, weil ein getrennter Nachweis von AA und DHAA nicht möglich ist.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Als Versuchstiere dienten erwachsene, männliche Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus*. Die Tiere waren alle in der Krallenaffenkolonie des Max von Pettenkofer-Institutes geboren, zwischen 3 und 5 Jahre alt und durchschnittlich etwa 400 g schwer. Jeweils 8 Tiere waren im Versuchsraum untergebracht. Im ersten Versuch standen für die 6 Versuchstiere Stoffwechselkäfige und für die 2 Kontrolltiere normale Stahlkäfige zur Verfügung. Acht Wochen nach Versuchsbeginn wurden auch die Kontrolltiere in 2 neue Stoffwechselkäfige umgesetzt. Für den zweiten Versuch wurden die 8 Affen von Anfang an in den Stoffwechselkäfigen gehalten. Die im Hause modifizierten Stoffwechselkäfige der Firma TECNIPLAST, Gazzada, Italien, haben eine annähernd quadratische Grundfläche von 37 cm x 39 cm und sind 51 cm hoch. Der Käfigboden besteht aus einem Drahtgitter mit einer Maschengröße von 1 cm x 1,5 cm. In Käfigmitte ist, ungefähr auf halber Höhe, eine Sitzstange aus PVC angebracht. An der Käfigdecke ist ein Schlupfkasten mit Maschendrahtboden von ca. 20 cm x 15 cm x 15 cm Größe befestigt. Um das Verspritzen von Harn zu verhindern, war die Käfigvorderseite mit Plexiglas verkleidet. Am Käfig ist außen ein abnehmbarer Futterautomat und eine Wasserflasche, deren Tränknippel ins Innere ragt, angebracht. Kot, Harn und Futterreste fallen durch den Maschendrahtboden in eine Polyester auffangwanne die, in das Trennsystem leitet. Im Trennsystem werden feste und flüssige Anteile voneinander getrennt

und dann gesondert aufgefangen. Die Tiere waren in einem fensterlosen, vollklimatisierten Raum bei 25°C Lufttemperatur und 60 % Luftfeuchte untergebracht. Die Beleuchtung erfolgte im 12 Stunden Tag-Nacht Rhythmus mit einer Lichtintensität von 500 Lux.

3.2 VERSUCHSPLANUNG

Versuch 1, Vitamin C-Depletion

Zur Erzeugung eines experimentellen Vitamin C-Mangels wurden im ersten Versuch (vom 23. 1. 85 bis 16. 4. 85, Tag 0 bis Tag 83) 6 Affen 12 Wochen lang ascorbinsäurefrei ernährt. Als Grundlage der Vitamin C-freien Diät diente die Koloniediät, die nur leicht modifiziert wurde (siehe Tab. 8). Die Diät der Kontrolltiere war bis auf den Vitamin C-Gehalt (2000 ppm) mit der der Versuchstiere identisch.

Die Versuchstiere sollten nur bis zum Auftreten erster klinischer Symptome eines Vitamin C-Mangels depletiert und dann mit einer Diät mit 2000 ppm Vitamin C repletiert werden. Dazu standen die Affen Bodo, Habakuk, Isidor, Volker, Django und Dino zur Verfügung. Als Kontrolltiere dienten Vim und Dagobert. Zur Bestimmung des Vitamin C-Status der Tiere und zur Kontrolle ihres Gesundheitszustandes wurden folgende Parameter herangezogen:

- Serum-Vitamin C-Spiegel
- Harn-Vitamin C-Ausscheidung
- Hämatologie
- Gewichtsentwicklung
- Futtermittelverzehr
- Hämokulttest
- Beurteilung des Allgemeinbefindens und des Gesundheitszustandes anhand eingehender Verhaltensbeobachtungen.

Auf die Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes der Leukozyten wurde verzichtet, weil zu dieser Analyse nicht genügend Blut zur Verfügung stand.

Versuch 2, verschiedener Vitamin C-Gehalt der Diät

In diesem Versuch vom 20.5.85 - 19.7.85 (Tag 0 bis Tag 68) wurden die Affen nacheinander mit Diäten verschiedenen Vitamin C-Gehalts ernährt. Dabei sollte untersucht werden, wie sich der Serum-Vitamin C-Spiegel und die Vitamin C-Ausscheidung verändern und bei welchem Serumgehalt die Nierenschwelle für Vitamin C liegt. Die 6 Affen Habakuk, Isidor, Vim, Dagobert, Django und Dino wurden zuerst 14 Tage lang mit einer Diät ernährt, die 2000 ppm Vitamin C enthielt. Nachdem 2 neue Tiere (Detleff und Gustav) in den Versuch genommen worden waren, wurde an alle 8 Tiere eine Diät mit 4000 ppm Vitamin C für 14 Tage gefüttert, dann eine Diät mit 500 ppm für 21 Tage und daran anschließend eine Diät mit 250 ppm für weitere 14 Tage. Jeweils in der letzten Woche wurde über die tägliche Futteraufnahme die Vitamin C-Aufnahme bestimmt und der Tagesharn gesammelt. Immer am letzten Diättag wurde Blutserum zur Ascorbinsäurebestimmung gewonnen.

Im letzten Versuchsabschnitt wurde den Tieren, zusätzlich zur Basisdiät von 250 ppm Vitamin C, eine einmalige, orale Vitamin C-Dosis von 15 mg in 2 ml Zuckerlösung verabreicht, und ab 24 Stunden vor bis 48 Stunden nach der Applikation im Tagesharn die Vitamin C-Menge bestimmt.

Versuch 3, Kolonieuntersuchung

Um einen Überblick über den Vitamin C-Status der Affen der Zuchtkolonie des Max von Pettenkofer-Institutes zu gewinnen, und um festzustellen, ob es Speziesunterschiede im Vitamin C-Stoffwechsel der verschiedenen Krallenaffenarten gibt, wurden Serumproben von männlichen, weiblichen, gesunden und kranken *Callithrix jacchus*, *Saguinus fuscicollis* und *Saguinus labiatus* untersucht. Bei jedem Tier wurde eine genaue Anamnese bezüglich der Ernährung und der Krankengeschichte durchgeführt. Der mittlere Serum-Vitamin C-Spiegel der gesunden *Callithrix jacchus* sollte als Referenzwert für die Versuchstiere herangezogen werden.

3.3 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Alle Manipulationen und Arbeiten im Raum und mit den Tieren wurden durch die Handzähmheit der Tiere sehr erleichtert. Um jegliche Art von Stress von den Tieren fernzuhalten, wurde versucht, den Tagesablauf möglichst konstant zu gestalten. Morgens wurde der Raum erst eine Stunde nach Beginn des Lichttages betreten und abends zuletzt eine Stunde vor Beginn der Dunkelphase. Nach BRUHIN (1979) senken Krallenaffen während der nächtlichen Tiefschlafphase ihre Körpertemperatur von max. $39,8^{\circ}\text{C}$ auf min. 34°C ab. Sie benötigen deshalb morgens eine ungestörte Aufwachphase und bereiten sich schon ca. eine Stunde vor dem Verlöschen des Lichts auf ihren Schlaf vor. In dieser Stunde nehmen sie kaum noch Nahrung und Wasser auf und setzen auch wenig oder gar keinen Harn mehr ab. Diese physiologischen Besonderheiten erleichtern die Durchführung von Bilanzuntersuchungen an diesen Tieren sehr. Ein neuer Versuchstag begann jeweils 3 Stunden nach Beginn des Lichttages, um 10⁰⁰ Uhr MEZ. In der Stunde davor wurden alle täglich anfallenden Arbeiten im Raum erledigt.

Fremde Personen wurden nur zu den Blutentnahmetermen in den Raum gelassen. Trotzdem war es nicht möglich, äußere Einflüsse gänzlich von den Affen fernzuhalten, die in Form von Gerüchen und Geräuschen über die Klimaanlage und aus den Nachbarräumen in den Versuchstierraum dringen konnten.

Futterverzehrsbestimmung

In die Futterautomaten wurden 300 g Pellets eingewogen. Der tägliche Futterverzehr wurde aus der Differenz von Einwaage und verworfenen Pellets errechnet.

Gewichtsbestimmung

Die Tiere waren daran gewöhnt, nach Öffnen des Käfigs freiwillig in einen Schlupfkasten zu gehen, der dann auf eine elektronische Waage gesetzt wurde. Die Gewichtsbestimmung wurde in regelmäßigen Abständen durchgeführt.

Harnsammlung

Die tägliche Harnmenge von 3,0 ml - 47,0 ml (BRUHIN, 1979) wird von den Affen nur tröpfchenweise in kleinen Portionen abgesetzt. Deshalb wurde tagsüber in regelmäßigen Abständen mit 5 %iger Metaphosphorsäurelösung aus der Auffangwanne in das Harnsammelgefäß gespült. Mit Harn kontaminierte Teile der Käfiginnenauskleidung wurden mit destilliertem Wasser gespült, um einen Kontakt der Tiere mit der Metaphosphorsäure zu vermeiden. Die so gewonnene Tagesharnmenge wurde im Labor auf ein definiertes Volumen aufgefüllt, gut gemischt, abzentrifugiert und dann ein Aliquot von 10 ml bei -20°C bis zur Analyse aufbewahrt. Fehler in der quantitativen Sammlung konnten dadurch entstehen, daß sich die Affen durch an Käfigteilen haftende Harnreste an Händen,

Füßen und Fell verunreinigen konnten. Außerdem leckten sie sich bei der Körperpflege Harnreste vom Präputium ab. Diese Verluste sind über die gesamte Versuchsdauer als konstant zu betrachten und betragen, geschätzt, maximal 3 %.

Blutentnahme

Dazu wurden die Tiere morgens aus dem Käfig gefangen und aus dem Raum gebracht. Sie wurden dann ohne Sedation fixiert, 1 ml - 1,5 ml Blut aus der Vena bzw. Arteria femoralis entnommen und das Blut zur Serumgewinnung in Qualicups (Zinser Frankfurt) gefüllt bzw. zur Bestimmung der hämatologischen Werte zusätzlich 0,2 ml in Röhrchen mit K-EDTA-Vorlage. Um Veränderungen der Hämatologie im Laufe des Versuches durch einen eventuellen Eisenmangel zu verhindern, erhielten die Tiere bei oder unmittelbar nach der Blutentnahme eine gesüßte Eisenlösung zur oralen Aufnahme angeboten. Alle Affen gewöhnten sich schnell an diese regelmäßige Prozedur und zeigten später kaum noch außergewöhnliche Erregung während des Fangens und Haltens.

Hämokultttest

Der Hämokultttest wurde mit dem Hämokultttest der Firma Boehringer, Mannheim nach Gebrauchsanleitung mit frisch abgesetztem Kot durchgeführt, um etwaige Blutungen im Gastrointestinaltrakt zu erkennen.

3.4 GERÄTE, REAGENTIEN UND DIXTPLAN

A.) Geräte

Säule	Hibar Lichrosorb Si 100 5µm Merck
Detektor	Model 450 Variable Wavelength Detector Waters Ass. Inc., Milford USA
Einspritzsystem	Model U 6 K Waters Ass. Inc.
Pumpe	Kontron LC Pump T 414
Integrator	Hewlett-Packard 3380-A
Spritze	Microliter Syringe No 801, Hamilton, Bonaduz, Schweiz
Zentrifuge	Eppendorf Zentrifuge 3200

B.) Reagentien

Metaphosphorsäure	Fluka AG, Buchs, Schweiz
Vitamin C (analytical grade)	Fluka AG, Buchs, Schweiz
Ethylacetat	Rathburn Chemicals
Diisopropyläther	Merck, Darmstadt
2,-4 Dinitrophenyl- hydrazin	Merck, Darmstadt
Thioharnstoff	Merck, Darmstadt
0,05 N Jod Titrisol	Merck, Darmstadt
Essigsäure 96 %	Merck, Darmstadt
Extraktionsmittel	Ethylacetat mit 2 % Essigsäure
Eluent	Diisopropyläther + Ethylacetat 1:1 mit 2 % Essigsäure
Hämokkultttest	Boehringer, Mannheim

Tabelle 8, Diätplan

Zusammensetzung der Vitamin C-freien Diät.

Komponenten	Anteil in %
Maisschrot	26,5
Speisehaferflocken	21,0
Weizenkleie	9,0
Saccharose	13,0
Glucose	2,9
Molkenprotein (Globulal 70 N)	4,0
Sojaproteinkonz. (Danpro A)	8,0
Casein (Säurecasein Meggle)	3,0
Fettkonzentrat (40 %, in MM-pulver)	6,0
Sojaöl	3,0
Vitaminvormischung (Vit.C-frei)	0,3
Spurenelementvormischung	0,1
$\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,9
CaCO_3	0,9
NaCl	0,7
Cholinchlorid	0,2
D,L-Methionin	0,1
Kalziumpropionat (Luprosil)	0,4
Summe	100,0

Die Normaldiät enthielt 0,2 % (2000 ppm) Vitamin C, ihr Maisschrotanteil betrug deshalb nur 26,3 %.

Für den Versuch 2 wurde in den Diäten jeweils nur der Vitamin C-Anteil und der Maisschrotanteil in entsprechender Weise geändert.

Alle Diäten wurden im Hause selbst gemischt und zu 5 mm Pellets gepresst. Ihr Vitamin C-Gehalt wurde mittels HPLC-Analyse überprüft.

Tabelle 9

Zusammensetzung der Vitamin C-freien Vitaminvormischung (Basis: Sojafleinmehl). Anteil der Komponenten in 3 Gramm Vormischung (= pro Kilogramm der fertigen Diät).

Retinol	10.000 IE
Cholecalciferol	2640 IE
α -DL-Tocopherolacetat	100 mg
Menadion	2 mg
Thiamin	5 mg
Riboflavin	10 mg
Pyridoxin	10 mg
Niacin	40 mg
Folsäure	4 mg
Ca-D-Pantothenat	20 mg
Cobalamin	50 mg
Biotin	1 mg

Tabelle 10

Zusammensetzung der Spurenelementvormischung (Basis: Magnesiumoxid). Anteil der Komponenten in 1 Gramm Vormischung (= pro Kilogramm der fertigen Diät).

Fe (aus Eisen-(III)-oxid)	100 mg
Mn (aus Mangan-(IV)-oxid)	50 mg
Zn (aus Zinkoxid)	100 mg
Cu (aus Kupferoxid)	10 mg
Se (aus Natriumselenit x 5 H ₂ O)	0,1 mg
J (aus Kaliumjodid)	1 mg
F (aus Natriumfluorid)	2 mg
Mo (aus Natriummolybdat x 2 H ₂ O)	0,5 mg
Ni (aus Nickelsulfat x 6 H ₂ O) ²	0,1 mg
Cr (aus Chrom-(III)-chlorid x 6 H ₂ O)	0,5 mg

3.5 Analytische Methoden

Futtertrockensubstanzbestimmung

Futterproben der jeweiligen Diät wurden mehrmals vor und während des Versuches entnommen. Eingewogene Teile wurden bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Hämatologische Untersuchung

Dazu wurden ca. 0,2 ml Blut in K-EDTA Rörchen überführt und mit einem Blutanalyseautomaten (HA-3 Analyser, Fa. Clay Adams) analysiert. Es wurden die Parameter PCV (Packed Cell Volume), MCV (Mean Corpuscular Volume), Hb (Hemoglobinconcentration), RBC (Red Bloodcell Count) und WBC (White Bloodcell Count) bestimmt und mit den Referenzwerten aus der Literatur verglichen.

Vitamin C-Bestimmung in Blutserum, Harn und Futter

Die Vitamin C-Analyse erfolgte durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) nach der Methode von SCHÖEPP et al. (1983), die relativ wenig Aufwand und Material erfordert und mit der auch geringe Probenmengen und niedrige Vitamin C-Konzentrationen sicher zu analysieren sind. Da Blutserum nur in sehr geringen Mengen zur Verfügung stand, wurde die Methode leicht modifiziert.

Nach dem Abseren wurde das Serum zur Vitamin C-Konservierung mit 5 %iger Metaphosphorsäure (MPS) im Verhältnis 1:1 versetzt und bis zur alsbaldigen Aufarbeitung bei -20°C gelagert. Nach dem Auftauen und Zentrifugieren wurden 0,2 ml dieses Gemisches zur Analyse verwendet.

20g jeder Futterprobe wurden fein zerkleinert, mit 100 ml 5%iger MPS versetzt, 10 Minuten geschüttelt, danach zentrifugiert, der Überstand abgehoben und mit 5 %iger MPS auf einen erwarteten Ascorbinsäuregehalt von 0,1 mg - 1,0 mg/100 ml eingestellt. Ein Aliquot von 0,4 ml wurde zur HPLC-Analyse verwendet.

Von den aufgetauten Harnproben wurden nach Zentrifugieren 0,4 ml des Überstandes zur Analyse verwendet.

Als Standard wurden jeweils 0,4 ml einer frisch zubereiteten Vitamin C-Lösung verwendet (0,1 mg und 1,0 mg /100 ml).

Probenvorbereitung in 1,5 ml Qualicups

	Serum(µl)	Harn, Futter(µl)
Probe	200	400
Jodlösung	+ 25	+ 50
Thioharnstoff	+ 25	+ 50
Kurz schütteln		
2,-4 Dinitrophenyl- hydrazin	+ 50	+100
Kurz schütteln		
Stehenlassen der Proben über Nacht bei Raumtemperatur im Dunkeln bis zum nächsten Morgen		
Extraktionsmittel	+250	+500
2 Minuten schütteln		
2 Minuten zentrifugieren bei 3000 g		
Abnehmen des klaren, orangeroten, organischen Überstandes		

10 μ l des Überstandes wurden in das HPLC-System eingespritzt. Die Fließgeschwindigkeit des Eluenten war 1,0 ml/Minute. Der HPLC Detektor wurde auf eine Wellenlänge von 500 nm eingestellt. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit Hilfe des programmierbaren Integrators.

Die Wiederfindungsrate, die mit Tagesharn bestimmt wurde, dem eine definierte Ascorbinsäuremenge zugesetzt worden war, betrug 97,6 %.

Die Präzision wurde durch 12-maliges Einschießen der gleichen Standardlösung bestimmt. Sie betrug 3,4 % (angegeben als Standardabweichung der Analysenwerte).

4 ERGEBNISSE

4.1 Versuch 1

4.1.1 DEPLETION

Nachdem an Tag 0 die Serum-Vitamin C-Spiegel und an Tag -1 und Tag 0 die tägliche Harn-Vitamin C-Ausscheidung festgestellt worden waren, wurden die 6 Versuchsaffen auf eine Vitamin C-freie Diät gesetzt. Ihr mittlerer Serum-Vitamin C-Wert fiel nach 6 Tagen auf weniger als ein Drittel des Ausgangswertes (Tag 0) ab (von 2,74 mg auf 0,72 mg/100 ml, siehe Tabelle 1). Das bedeutet, daß der Vitamin C-Serumspiegel mehr als eine Woche innerhalb des Normalbereiches (McNEES et al., 1983) blieb, obwohl kein Vitamin C mit der Nahrung aufgenommen wurde. Nach 13 Versuchstagen sank der mittlere Serumspiegel auf ca. 10 % (0,26 mg/100 ml) des Ausgangswertes ab. An Tag 28 und 42 wurden etwa gleich hohe Spiegel von ca. 0,10 mg/100 ml festgestellt. Erst die Bestimmung an Tag 77 erbrachte nochmals einen deutlich abgefallenen Mittelwert (0,04 mg/100 ml). Die Kontrolltiere hatten bei jeder Bestimmung Werte im oder über dem Referenzbereich. An Tag 13 zeigten sie die niedrigsten Werte.

Die durchschnittliche Ausscheidung (siehe Tabelle 2) von unmetabolisiertem Vitamin C im Harn der Versuchstiere ging schon nach 24 Stunden Depletion auf etwa ein Drittel und nach 48 Stunden auf ca. 3 % der Ausscheidung von Tag 0 zurück. In den folgenden 3 Tagen sank die Vitamin C-Konzentration im Harn weiter ab. An Tag 5, 16 und 17 waren nur noch Spuren nachweisbar. Aus diesem Grunde wurden keine weiteren Harnanalysen gemacht.

An Tag 77 zeigte die hämatologische Untersuchung (siehe Tabelle 4) bei den Versuchstieren deutliche Unterschiede zu den Werten von Tag 28. In der Versuchsgruppe war der MCV von $72 \mu\text{m}^3$ auf $59 \mu\text{m}^3$ und der PCV von 55,6 % auf 38,7 % abgesunken und der Hb-Gehalt von 17,6 g auf 19,8 g/100 ml gestiegen. Drei Tiere (Habakuk, Volker, Django) hatten erniedrigte Werte für MCV, 2 Tiere (Habakuk und Volker) hatten PCV-Werte im unteren Bereich der Referenzangaben (30,6% und 30,1%). Bodo zeigte erhöhte Werte für MCV ($75 \mu\text{m}^3$) und Hb (20,8 g/100 ml). Bei allen Analysen waren die Werte der Kontrolltiere normal. Gegenüber den Referenzangaben konnten regelmäßig höhere Werte für PCV und Hb festgestellt werden.

Verhalten und Allgemeinbefinden der Affen blieben in den ersten 6 Versuchswochen vollkommen ungestört. Danach war eine langsame Abnahme der Bewegungsaktivität zu beobachten, die sich in der letzten Woche der Depletion nochmals verstärkte.

Bei einem Tier (Volker) entwickelte sich nach Tag 48 eine deutliche Schwellung an der linken Backe. An Tag 56 wurde ihm mit einer Pinzette der linke Caninus aus dem Oberkiefer entfernt. Volker verlor bis um Ende der Depletion alle Unterkieferschneidezähne, zeigte aber zu keiner Zeit Probleme bei der Futteraufnahme oder gestörtes Allgemeinbefinden. Durch die Blutentnahme an Tag 77 entstand medial am rechten Oberschenkel von Volker ein Hämatom und die Haut in der Umgebung verfärbte sich blaurot. Diese Veränderungen blieben in der Folgezeit unverändert bestehen. Es waren keine Störungen der Fortbewegung bei ihm zu erkennen.

Erst in der letzten Woche der Depletion war bei der Versuchsgruppe ein um ca. 2 g/Tag reduzierter Futterverzehr zu beobachten. Als erster Affe verlor Volker ab Tag 76 an Körpergewicht. Das durchschnittliche Körpergewicht der Versuchsgruppe verringerte sich bis zum Depletionsende um ca. 20 g pro Tier. Volker verlor 42 g Körpergewicht.

Alle Tests auf okkultes Blut in den Fäces fielen negativ aus.

Nachdem als erste Anzeichen für einen Vitamin C-Mangel bei den Versuchstieren Blutbildveränderungen, reduzierte Aktivität, Gewichtsverlust und reduzierter Futterverzehr auftraten und ein Affe (Volker) mehrere Zähne verloren sowie ein Hämatom entwickelt hatte, wurde nach Tag 83 die Depletion beendet. Durch diesen Versuch war eindeutig bewiesen, daß Vitamin C ein essentieller Nahrungsbestandteil für Krallenaffen ist.

4.1.2 REPLETION

Bei einem mittleren Trockensubstanzgehalt (TS) der Repletionsdiät von 90 % und einem durchschnittlichen Futterverzehr von 15 g nahmen die Tiere täglich ca. 27 mg Vitamin C auf. Die durchschnittliche metabolische Körpermasse (mKM) dieser Affen kann nach der Formel von Kleiber (Körpergewicht^{0,75}) näherungsweise mit 0,5 kg angegeben werden, da das Durchschnittsgewicht der Affen ca. 400 g betrug. Daraus ergab sich eine Vitamin C-Aufnahme von ca. 67 mg/kg KM bzw. etwa 54 mg/kg mKM.

Am 2.Tag (Tag 85) nach der Umstellung auf die Repletionsdiät, wurde der Affe Volker morgens in Agonie aufgefunden. Um 9⁰⁰ Uhr war das Tier tot. Bei dem Affen Bodo waren zur gleichen Zeit Erbrechen und Ataxie zu beobachten. Trotz sofortiger therapeutischer Maßnahmen starb der Affe um 15⁰⁰ am nächsten Tag (Tag 86). Beide Tiere wurden sofort seziert und pathologisch-anatomisch untersucht. Alle Organe wurden zudem histologisch untersucht.

Von den übrigen 4 Affen wurden 48 Stunden (Tag 85) nach der Umstellung auf die Repletionsdiät die Serum-Vitamin C-Werte bestimmt (siehe Tabelle 1). Dabei wurde ein gleich hoher Durchschnittswert wie vor Beginn der Depletion festgestellt (Tag 0 = 2,74 mg /100 ml, Tag 85 = 2,79 mg/100 ml). Sechs Tage nach der Umstellung (Tag 89) wurden bei der Versuchs- (V) sowie der Kontrollgruppe (K) hohe Vitamin C-Serumkonzentrationen festgestellt (V = 4,87 mg/100 ml, K= 6,15 mg/100 ml). Am Tag 97 war die mittlere Konzentration in beiden Gruppen auf ungefähr ein Drittel abgesunken. Sie betrug bei der Versuchsgruppe 1,64 mg/100 ml und bei der Kontrollgruppe 2,32 mg/100 ml.

Schon 24 Stunden nach Beginn der Repletion war im Harn aller Versuchstiere Vitamin C deutlich nachzuweisen (siehe Tabelle 3). Sie schieden ca. 1 % der aufgenommenen Menge als unmetabolisierte Ascorbinsäure aus. Am Tag 85 betrug die ausgeschiedene Menge im Durchschnitt fast 4 % der Aufnahme. Ab Tag 86, also nur 3 Tage nach beendeter Depletion, entsprach die prozentuale Vitamin C-Ausscheidung der Versuchsgruppe (21,1 %) den Werten vor Versuchsbeginn (22,6 %) und denen der Kontrollgruppe (21,5 %). Am Tag 97 und während der Sammelperiode, Tag 118 bis Tag 121, war die Vitamin C-Ausscheidung beider Gruppen gleich hoch.

Am Tag 97 wurden bei der hämatologischen Untersuchung bei keinem Affen von der Norm abweichende Befunde festgestellt (siehe Tabelle 4).

Das Allgemeinbefinden der 4 Versuchsaffen blieb während der Repletionsphase ungestört. Nach 2 Wochen Repletion waren sie wieder genauso agil und aktiv wie vor Versuchsbeginn.

In den ersten Tagen der Repletion war der tägliche Futterverzehr der frischen Diät in beiden Gruppen leicht erhöht, er sank dann aber wieder auf das normale Maß ab. Das durchschnittliche Körpergewicht der Versuchstiere blieb während der Repletion konstant.

Schaubild 1

Vitamin C - Serumspiegel der Versuchstiere (o) und der Kontrolltiere (●) während der Depletion (Tag 0 - 83) und der Repletion (Tag 83 - 97).

(X—X = Mittelwert der Versuchsgruppe)

(●-----● = Einzelwerte der 2 Kontrolltiere)

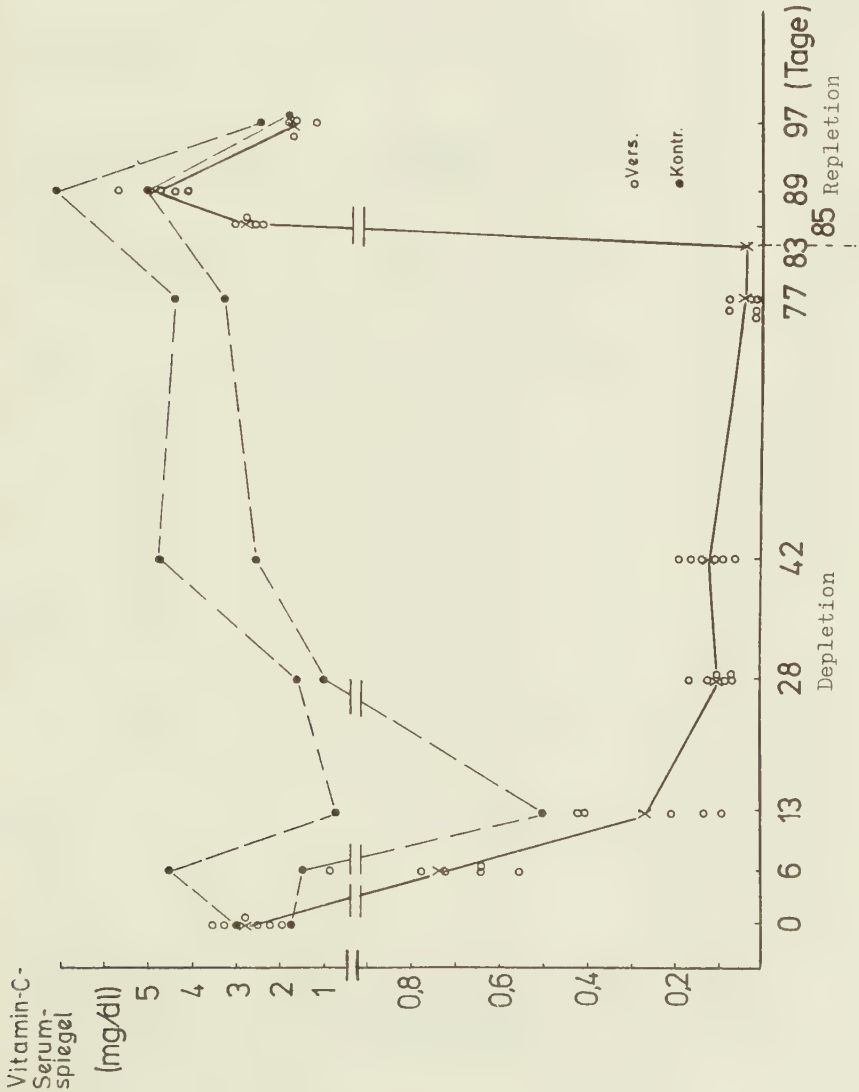


Tabelle 1, Versuch 1, DEPLETION und REPLETION

Vitamin C-Serumspiegel (mg/100 ml) während der Vitamin C-Depletion (Tag 0 bis Tag 83) und der Repletion (ab Tag 83).

V.-tag:	0	6	13	28	42	77	85	89	97
Bodo	3,37	0,94	0,40	0,06	0,13	0,03	----	----	----
Habakuk	2,72	0,56	0,27	0,10	0,18	0,02	3,18	5,72	1,77
Isidor	2,50	0,64	0,15	0,10	0,08	0,07	2,76	4,23	1,77
Volker	2,30	0,65	0,09	0,06	0,07	0,01	----	----	----
Django	2,09	0,73	0,42	0,17	0,15	0,01	2,76	4,67	1,30
Dino	3,46	0,77	0,20	0,06	0,12	0,08	2,46	4,84	1,71
$\bar{x}$ Versuch	2,74	0,72	0,26	0,09	0,12	0,04	2,79	4,87	1,64
s	0,56	0,13	0,13,	0,04	0,04	0,03	0,30	0,63	0,23
Vim	3,17	4,68	0,98	1,74	5,98	4,42	----	7,32	2,66
Dagobert	1,89	1,51	0,50	1,28	2,66	3,40	----	4,98	1,97
$\bar{x}$ Kontrolle	2,53	3,10	0,74	1,51	4,32	3,91	----	6,15	2,32

Vitamin C- Ausscheidung im Harn der Versuchstiere (o) und der Kontrolltiere (●) während der Depletion und Repletion.

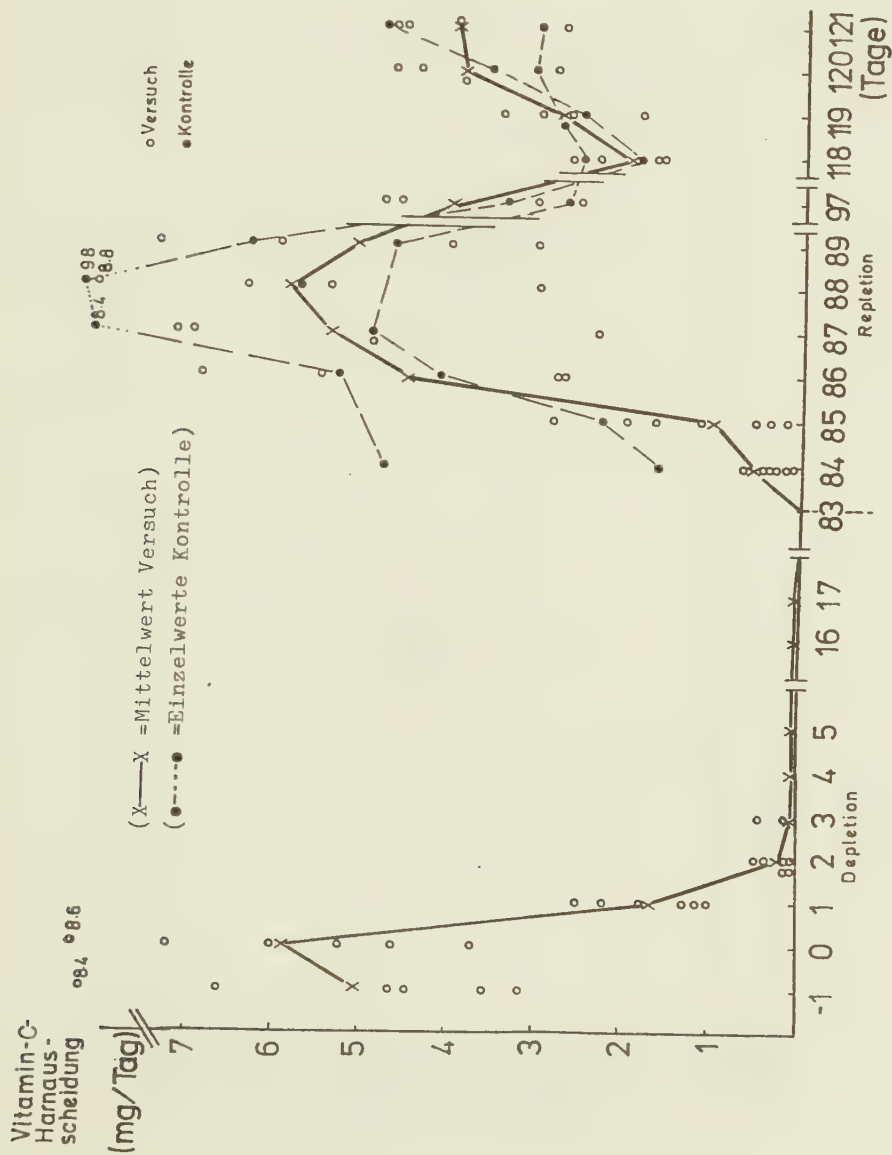


Tabelle 2, Versuch 1, DEPLETION

Vitamin C-Ausscheidung im Harn (mg/Tag) vor und während der Vitamin C-Depletion.

Versuchstag:	-1	0	1	2	3	4	5	16	17
Bodo.	4,45	5,20	1,77	0,13	0,01	0,04	0,04	0,00	0,02
Habakuk	4,66	4,63	2,19	0,05	0,02	0,04	0,05	0,01	0,01
Isidor	3,15	3,73	1,00	0,07	0,01	0,06	0,02	0,00	0,08
Volker	8,38	8,60	2,50	0,38	0,18	0,18	0,08	0,02	0,06
Django	6,60	5,96	1,28	0,13	0,03	0,04	0,03	0,02	0,06
Dino	3,57	7,22	1,10	0,40	0,40	0,05	0,06	0,03	0,02
$\bar{x}$	5,14	5,86	1,64	0,19	0,05	0,07	0,04	0,01	0,03
s	1,99	1,78	0,61	0,16	0,07	0,05	0,02	0,01	0,03

(Keine Werte von den Kontrolltieren vorhanden, da diese noch nicht in Stoffwechselkäfigen saßen.)

SCHAUBILD 3

Vitamin C-Ausscheidung im Harn der Versuchstiere (o) und der Kontrolltiere (•) in Prozent der täglichen Vitamin C-Aufnahme während der Repletion.

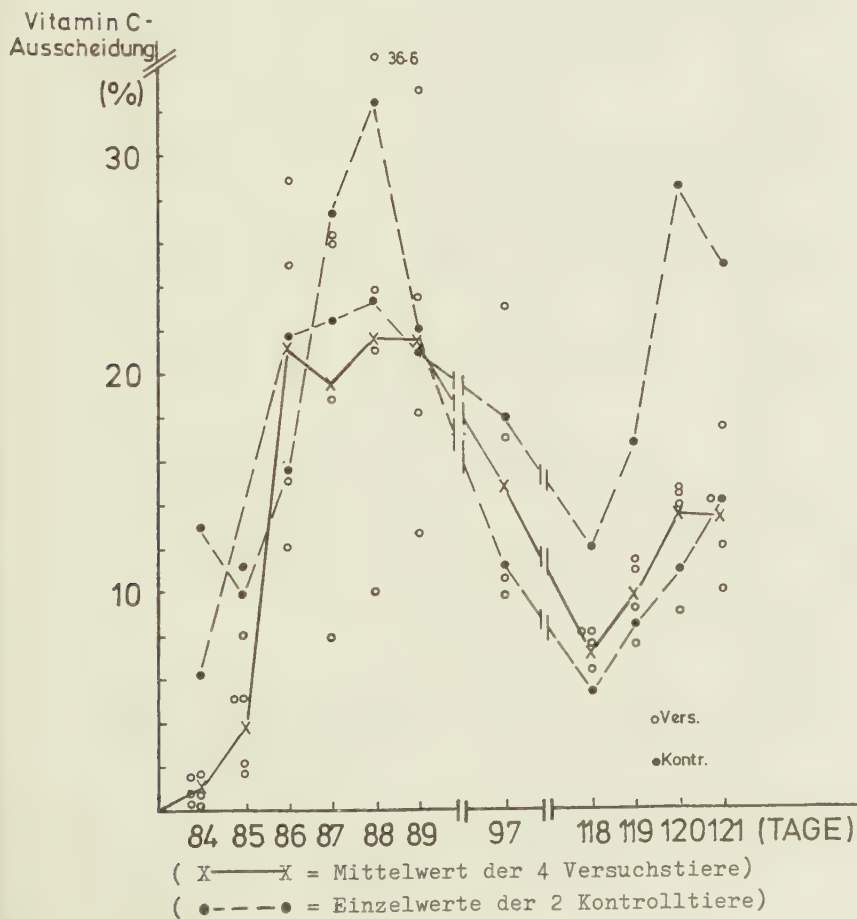


Tabelle 3, Versuch 1, REPLETION

Vitamin C-Ausscheidung (mg/Tag) im Harn während der Repletion ab Tag 83

Versuchstage:	84	85	86	87	88	89	97
Bodo	0,18	0,16	----	----	----	----	----
Habakuk	0,45	1,15	6,88	6,99	8,83	7,36	4,84
Isidor	0,22	0,57	2,86	2,36	3,01	3,08	2,57
Volker	0,63	0,40	----	----	----	----	----
Django	0,44	1,69	5,51	7,28	6,40	6,03	4,65
Dino	0,13	2,01	2,79	4,95	5,38	4,06	3,09
$\bar{x}$ Versuch	0,34	1,00	4,51	5,40	5,91	5,13	3,79
s	0,20	0,74	2,02	2,27	2,41	1,93	1,13
Vim	1,61	2,31	4,22	4,96	5,82	4,70	2,69
Dagobert	4,76	2,81	5,32	8,41	9,80	6,40	3,40
$\bar{x}$ Kontrolle	3,19	2,56	4,77	6,69	7,81	5,55	3,05

Tabelle 4

Hämatologische Befunde zu verschiedenen Zeitpunkten während Vitamin C-Depletion, Repletion und Versuch 2 (Mittelwerte).

		MCV (μm^3)	PCV (%)	Hb (g/100ml)	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	WBC ($10^3/\text{mm}^3$)
Referenzwerte ^a (Bereich)		72	42,7 (22,7-52,4)	16,1 (10,9-19,3)	5,65 (3,4-7,2)	8,1 (2,7-17,5)
Depletion						
Tag 0	V.	73	51,9	17,7	7,08	8,0
	K.	73	50,6	18,6	6,85	7,7
Tag 28	V.	72	55,6	17,6	7,62	6,1
	K.	76	56,5	18,4	7,44	3,0
Tag 77	V.	59	38,7	19,8	6,7	5,9
	K.	68,5	52,4	18,7	7,6	6,7
Repletion						
Tag 97	V.	67	54,7	17,8	7,53	6,8
	K.	66	49,8	18,2	7,45	6,4
12.6.85 (8 Tiere)		71	55,9	17,6	7,57	5,3

a: Referenzwerte für männliche, adulte *Callithrix jacchus* (Yarbrough et al., 1984).

4.2 Versuch 2, VERSCHIEDENER VITAMIN C-GEHALT DER DIÄT

Durch Veränderung des Vitamin C-Gehaltes der Diät sollte der Minimalbedarf von Krallenaffen ermittelt werden, der Vitamin C-Mangel verhütet. Außerdem sollte festgestellt werden, wie hoch der optimale Vitamin C-Gehalt im Futter dieser Affen sein soll.

Die durchschnittliche Vitamin C-Aufnahme durch die Diät mit 2000 ppm betrug wie in der Repletionsphase ca. 27 mg pro Tier und Tag (ca. 67,5 mg/kg KM). Bei gleichem Futtermittelverzehr und TS-Gehalt der Diät mit 4000 ppm Vitamin C nahmen die Tiere ca. 54 mg Vitamin C am Tag auf (ca. 135 mg/kg KM). Dies entsprach in etwa einer Vitamin C-Aufnahme von 54 mg bzw. 108 mg/kg metabolischer KM.

Der mittlere Vitamin C-Serumspiegel (2,74 mg/100 ml) während der Diät mit 2000 ppm Vitamin C war nur geringfügig niedriger als die Konzentration, die bei der Diät mit 4000 ppm gemessen werden konnte (3,21 mg/100 ml, siehe Tabelle 5). Der prozentual im Harn ausgeschiedene Anteil nicht metabolisierter Ascorbinsäure aus der aufgenommenen Vitamin C-Menge war bei beiden Diäten etwa gleich groß (siehe Tabelle 6a), während die absolut ausgeschiedene Menge bei der Diät mit 4000 ppm fast doppelt so hoch war. (siehe Schaubild 4). Obwohl die Vitamin C-Aufnahme doppelt so hoch war, führte dies nur zu einer leichten Erhöhung der Serumspiegel. Bei Verfütterung der Diät mit 500 ppm Vitamin C-Gehalt nahm jeder Affe, bei einem Futtermittelverzehr von durchschnittlich 17 g/Tag und einem TS-Gehalt von ca. 88 %, etwa 7,5 mg Vitamin C auf, was ca. 19 mg/kg KM oder ca. 15 mg/kg

mKM entspricht. Die Serumspiegel sanken, im Vergleich zu der Diät mit 2000 ppm um ca. 60 % auf durchschnittlich 1,06 mg/100 ml ab (siehe Tabelle 5). Die Vitamin C-Konzentration im Tagesharn (siehe Tabelle 6b) verringerte sich auf ca. 20 % und im Vergleich zur Diät mit 4000 ppm auf ca. 10 %.

Der prozentual ausgeschiedene Anteil der aufgenommenen Vitamin C-Menge war bei allen 3 Diäten etwa gleich groß (siehe Schaubild 5), aber mit deutlichen individuellen Unterschieden.

Durch die Diät mit 250 ppm Vitamin C (TS-Gehalt ca. 86 %, Futterverzehr etwa 17 g), konnten die Affen noch täglich ca. 4 mg Vitamin C aufnehmen, was ca. 9,4 mg/kg KM bzw. 7,5 mg/kg mKM entspricht. Der Vitamin C-Serumspiegel sank um etwa 25 % gegenüber der vorhergehenden Diät mit 500 ppm ab (siehe Tabelle 5). Es wurden nur noch sehr geringe Vitamin C-Mengen im Harn gefunden (siehe Tabelle 6b, Schaubild 4) und auch die prozentual ausgeschiedene Menge war deutlich auf unter 2,3 % reduziert (siehe Schaubild 5).

Durch die einmalige, orale Gabe von 15 mg Vitamin C zusätzlich zur Basisdiät mit 250 ppm Vitamin C kam es bei 4 von 7 Tieren zu einer deutlichen Erhöhung der Vitamin C-Ausscheidung im Harn (siehe Tabelle 6c). Drei Affen reagierten darauf nur mit einer geringfügig erhöhten Ausscheidung. Der größte Anteil (ca. 80 %) dieser erhöhten Ausscheidung wurde innerhalb der ersten 6 Stunden nach der Applikation im Harn gefunden. In den folgenden 18 Stunden wurden noch knapp 20 % ausgeschieden. Am 2.Tag waren, im Vergleich zum Tag vor der Gabe, nur noch geringfügig erhöhte Vitamin C-Mengen im Harn zu finden (siehe Schaubild 4 und 5). Der Affe Habakuk zeigte als Kontrolltier im Versuchszeitraum keine erhöhte Vitamin C-Ausscheidung im Harn.

Ermittlung der Nierenschwelle für Vitamin C

Ab Tag 3 der Depletion wurden im Harn nur noch Spuren von Vitamin C gefunden (siehe Tabelle 2). Am Tag 6 der Depletion betrug der Serumspiegel aber noch 0,72 mg/100 ml (siehe Tabelle 1). Die Grenzkonzentration für die Vitamin C-Ausscheidung muß also über diesem Serumgehalt liegen. In Versuch 2 sank der Serumspiegel bei Verfütterung der Diät mit 250 ppm Vitamin C auf 0,76 mg/100 ml gegenüber 1,06 mg/100 ml bei der vorangegangenen Diät mit 500 ppm ab (siehe Tabelle 5). Gleichzeitig sank die Ascorbinsäurekonzentration im Harn (siehe Tabelle 6b) auf minimale Werte (ca. 10% der Ausscheidung bei der Diät mit 500 ppm). Sechs von acht Affen hatten nur noch Spuren von Vitamin C im Harn. Die Nierenschwelle für Vitamin C muß deshalb bei dieser Affenart zwischen den Serum-Vitamin C-Konzentrationen von 0,76 mg und 1,06 mg pro 100 ml Serum liegen. Beim Menschen liegt sie etwa im gleichen Bereich zwischen 0,8 mg und 0,9 mg Vitamin C pro 100 ml Serum (KALLNER et al., 1979).

Tabelle 5

Vitamin C-Serumspiegel (mg/100 ml) bei verschiedenem Vitamin C-Gehalt der Diät.

ppm:	4000	2000	500	250
Habakuk	2,88	2,72	0,55	0,32
Isidor	2,57	2,50	0,84	0,37
Vim	3,01	3,17	0,78	0,42
Detleff	3,42	----	1,08	1,28
Gustav	4,06	----	1,35	1,23
Dagobert	3,36	1,89	1,22	0,82
Django	3,07	2,09	1,70	0,93
Dino	3,32	3,46	0,96	0,74
$\bar{x}$	3,21	2,74	1,06	0,76
s	0,44	0,56	0,36	0,38

Schaubild 6

Mittlerer Vitamin C-Serumspiegel der Affen aus Versuch 2
bei verschiedenem Vitamin C-Gehalt der Diät.

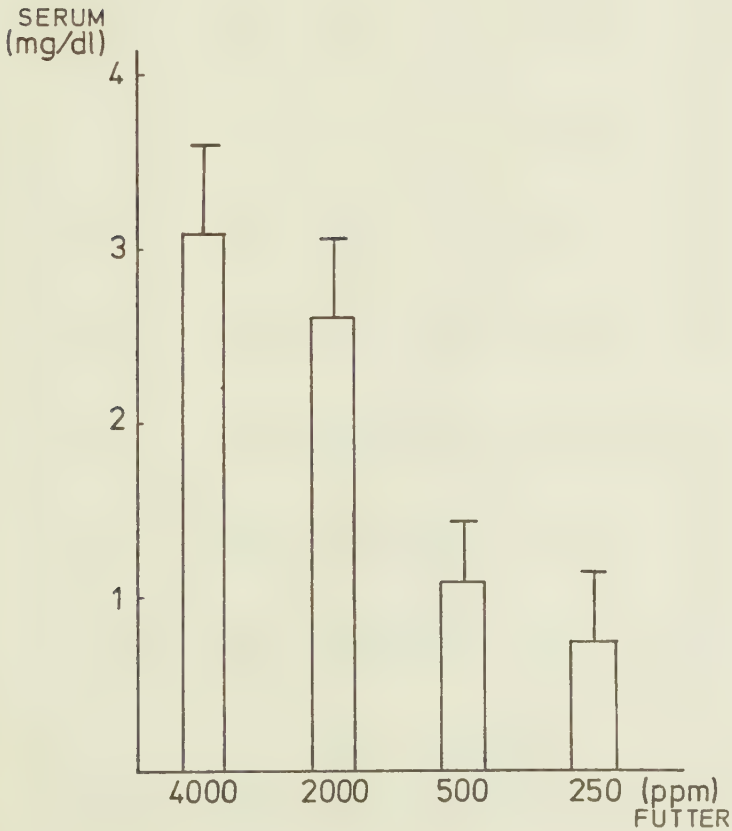


Tabelle 6a

Vitamin C-Ausscheidung (mg/Tag) im Harn bei verschiedenem Vitamin C-Gehalt der Diät.

Vitamin C (ppm):		4000					2000				
V.-Tag:	18	19	20	25	26	8	9	10	11		
Habakuk	4,06	4,20	5,21	3,00	3,68	1,66	2,63	3,79	3,90		
Isidor	3,36	4,23	3,76	3,08	2,81	1,46	1,83	2,71	2,66		
Vim	3,42	4,65	4,98	3,48	2,86	2,59	2,70	3,10	3,00		
Detleff	0,78	4,12	8,24	5,65	5,88	----	----	----	----		
Gustav	7,16	9,68	12,34	10,94	10,94	----	----	----	----		
Dagobert	3,24	4,17	4,66	3,07	3,14	1,78	2,57	3,63	4,73		
Django	5,57	7,31	7,51	5,45	5,85	2,38	3,44	4,42	4,69		
Dino	4,29	5,86	6,66	5,08	4,02	2,62	3,00	4,69	4,61		
$\bar{x}$	3,99	5,07	6,67	4,97	4,90	2,08	2,70	3,72	3,93		
s	1,86	1,27	2,74	2,66	2,73	0,51	0,53	0,75	0,91		

Tabelle 6b,

Vitamin C (ppm):		500					250				
V.-Tag:	44	45	46	47	58	59	60	61			
Habakuk	0,30	0,29	0,27	0,53	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	
Isidor	0,27	0,17	0,34	0,52	0,03	0,02	0,03	0,04	0,07	0,07	
Vim	0,06	0,07	0,11	0,10	0,02	0,03	0,01	0,04	0,04	0,04	
Detleff	0,76	0,89	0,29	1,46	0,10	0,13	0,11	0,21	0,21	0,21	
Gustav	1,37	1,21	1,30	1,97	0,11	0,12	0,16	0,12	0,12	0,12	
Dagobert	0,37	0,18	0,38	0,53	0,01	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	
Django	0,70	0,51	0,71	0,86	0,06	0,06	0,08	0,03	0,03	0,03	
Dino	0,66	0,62	0,81	1,15	0,01	0,07	0,10	0,08	0,08	0,08	
$\bar{x}$	0,56	0,49	0,53	0,89	0,05	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	
s	0,41	0,40	0,39	0,61	0,04	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	

Tabelle 6c,

Änderung der Vitamin C-Ausscheidung (mg/Tag) im Harn nach einmaliger oraler Substitution mit 15 mg Ascorbinsäure.

Vitamin C (ppm):	250	250 +15mg			250
V.-Tag:	66	67	67	67	68
Zeit(Stunden):	-24 - 0	0 - 6	6 - 24	0 - 24	24 - 48
Isidor	0,00	0,80	0,15	0,95	0,05
Vim	0,00	0,00	0,06	0,06	0,02
Detleff	0,03	1,17	0,21	1,38	0,20
Gustav	0,02	1,62	0,41	2,03	0,08
Dagobert	0,02	0,09	0,06	0,15	0,02
Django	0,01	1,16	0,17	1,33	0,07
Dino	0,02	0,03	0,03	0,06	0,02
- x	0,02	0,70	0,16	0,85	0,06
s	0,02	0,66	0,13	0,78	0,06
Kontrolle					
Habakuk	0,00	0,00	0,02	0,02	0,04

SCHAUBILD 4

Vitamin C- Ausscheidung im Harn der Affen aus Versuch 2
bei verschiedenem Vitamin C-Gehalt der Diät.

(X — X = Mittelwert)

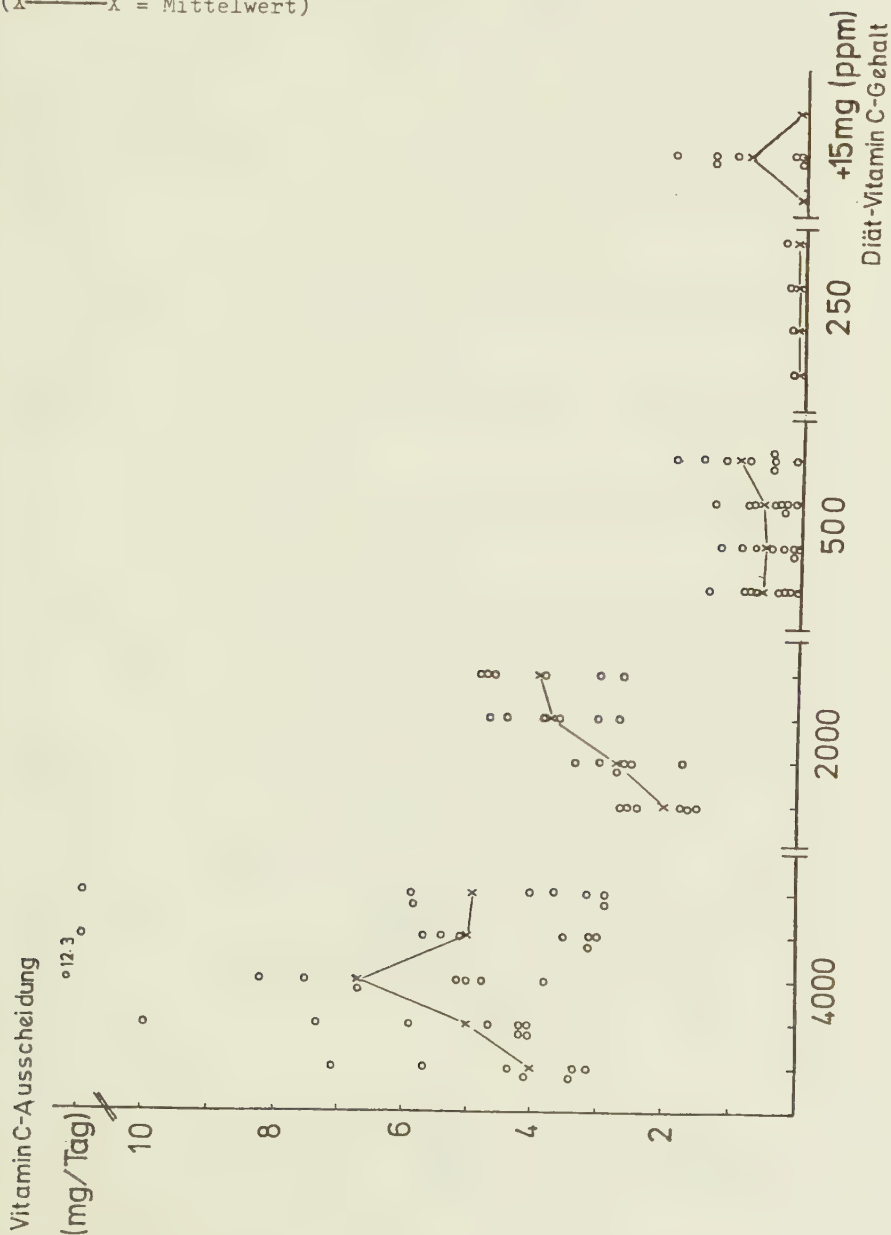
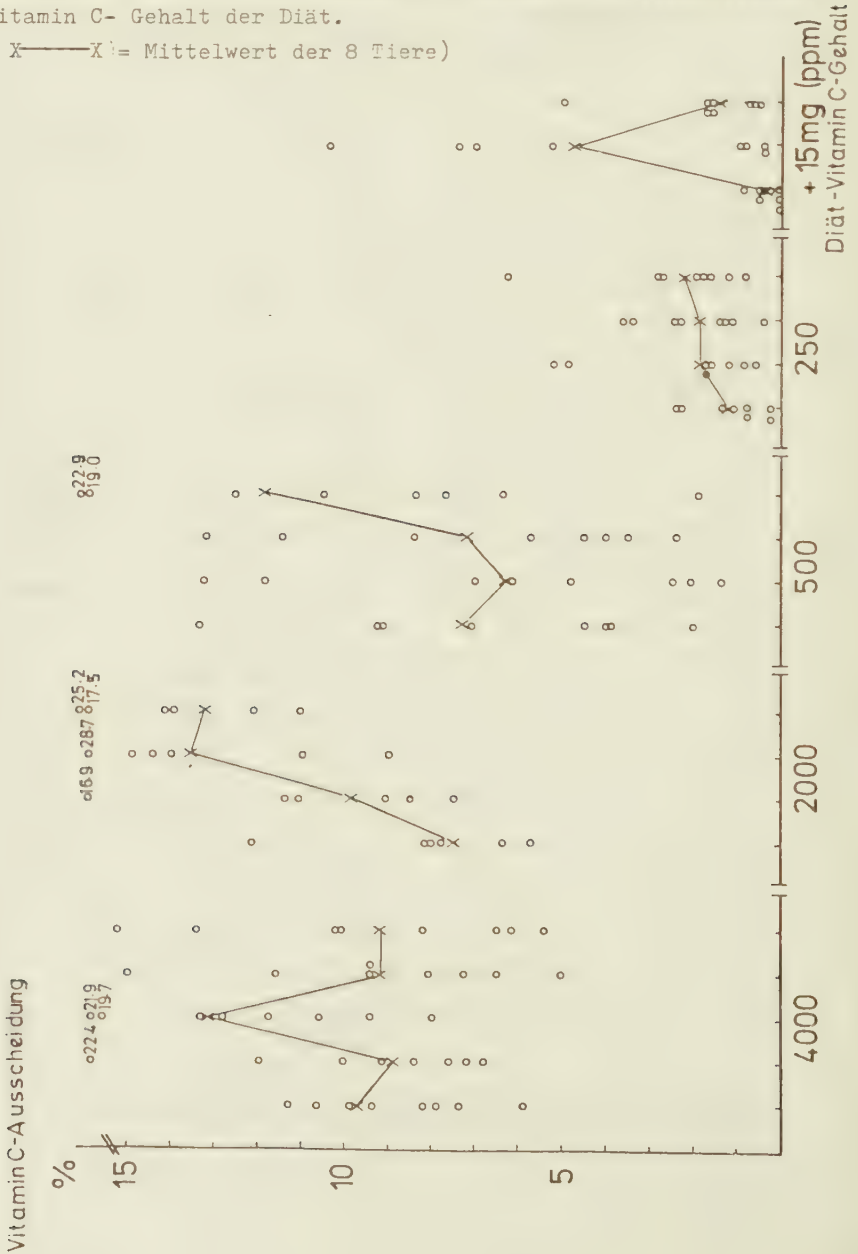


Schaubild 5

Vitamin C-Ausscheidung im Harn der 8 Affen aus Versuch 2
in Prozent der täglichen Vitamin C- Aufnahme bei verschiedenem
Vitamin C- Gehalt der Diät.

($\bar{X}$ — $\bar{X}$ = Mittelwert der 8 Tiere)



4.3 Versuch 3, KOLONIEUNTERSUCHUNG

In der Zuchtkolonie des Max von Pettenkofer-Institutes wurde von insgesamt 57 Krallenaffen an 6 Tagen zu etwa der gleichen Tageszeit Blut genommen. Es wurden 28 Seren von *Callithrix jacchus*, 27 Seren von *Saguinus fuscicollis* und 2 Seren von *Saguinus labiatus* auf ihren Vitamin C-Gehalt untersucht (siehe Tabelle 7). Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: augenscheinlich gesunde Tiere, die nur Koloniediät und Bananenstücke erhielten.

Gruppe 2: augenscheinlich gesunde Tiere, die zusätzlich Brei gefüttert bekamen.

Gruppe 3: Affen, die krank waren oder kümmernten und auch Brei zusätzlich bekamen.

McNEES et al., (1983) fanden bei 168 Analysen für *C.jacchus* einen mittleren Vitamin C-Serumspiegel von 0,98 mg/100 ml bei einer Streuung von 0,06 mg - 4,10 mg/100 ml. Als Normalbereich geben sie 0,50 mg - 1,50 mg/ 100 ml an.

Die 28 untersuchten *C. jacchus* hatten demgegenüber einen doppelt so hohen durchschnittlichen Vitamin C-Spiegel von 2,01 mg/100 ml bei einer vergleichbaren Streuungsbreite von 0,03 mg - 4,30 mg/100 ml (siehe Tabelle 7). Der Durchschnittswert der 19 gesunden Tiere lag sogar noch höher (2,56 mg/100 ml). Die 4 gesunden, zusätzlich mit Brei ver-

sorgten Affen zeigten bereits deutlich niedrigere Serumspiegel, die aber alle noch über 1,0 mg/100 ml lagen. Die 5 kranken Affen aus der dritten Gruppe, die zur Behandlung häufig aus dem Käfig gefangen wurden, hatten zum Teil extrem niedrige Vitamin C-Serumspiegel (0,03 mg, 0,06 mg, 0,17 mg, 0,50 mg und 1,60 mg pro 100 ml). Von den Affen aus der ersten Gruppe hatte nur einer einen Wert unter 1,0 mg/100 ml (0,38 mg). Diese Befunde sprechen für einen erhöhten Bedarf kranker und gestreßter Tiere.

Der mittlere Serumspiegel der 21 augenscheinlich gesunden *S. fuscicollis* (Gruppe 1) war um ca. 80 % niedriger als der der gesunden *C. jacchus* (0,54 mg/100 ml gegenüber 2,56 mg/100 ml). Zehn der "gesunden" *S. fuscicollis* hatten im Serum Vitamin C-Konzentrationen unter 0,50 mg/100 ml und 2 Tiere sogar unter 0,20 mg/100 ml. Einen Serumspiegel über 1,0 mg/100 ml hatten nur 2 Affen (1,05 mg und 1,24 mg/100 ml) aus der ersten Gruppe. Die 4 Affen aus Gruppe 2 hatten einen Durchschnittswert von 0,47 mg/100 ml und die 2 augenscheinlich kranken Affen aus Gruppe 3 wiesen sehr niedrige Serumkonzentrationen von 0,08 und 0,18 mg/100 ml auf. Der mittlere Serumspiegel aller 27 *S. fuscicollis* lag bei 0,50 mg Vitamin C pro 100 ml Serum und damit um ca. 75 % niedriger als bei den *C. jacchus* (2,01 mg). Zwischen diesen beiden Krallenaffenarten scheint es einen deutlichen Unterschied im Vitamin C-Stoffwechsel und damit im täglichen Bedarf zu geben.

Die Serumwerte der 2 *S. labiatus* lagen bei dem kranken Tier bei 0,43 mg und bei dem gesunden Affen bei 1,26 mg/100 ml.

Alle Krallenaffenarten werden in der Kolonie unter den selben Bedingungen gehalten und mit der gleichen Diät gefüttert. Die *S. fuscicollis* weisen gegenüber *C. jacchus* einen höheren Futterverzehr bei nur geringfügig höherem Körpergewicht auf und nehmen also auch täglich mehr Vitamin C pro Kilogramm KM auf. Tiere der Spezies *C. jacchus* sind im Vergleich zu den *S. fuscicollis* viel weniger schreckhaft, ängstlich und streßempfindlich (FLURER, 1985). Dies wäre eine mögliche Erklärung für den unterschiedlichen Vitamin C-Bedarf der beiden Spezies.

Nachdem diese Ergebnisse vorlagen, wurde allen Affen, deren Serumgehalt unter 0,50 mg Vitamin C/100 ml lag, täglich ein mit hohen Vitamin C-Mengen angerührter Brei zusätzlich zur Koloniediät gefüttert. Angestrebt war eine zusätzliche tägliche Zufuhr von ca. 100 mg Vitamin C pro Tier. Vier Wochen später wurden von drei *C. jacchus* und einem *S. fuscicollis* die Serumspiegel bestimmt. Alle 4 Affen zeigten trotz unterschiedlicher Akzeptanz des Breis deutlich erhöhte Werte. Bei den 3 *C. jacchus* stieg der Serumspiegel von 0,38 mg, 0,03 mg und 0,17 mg auf 3,20 mg, 4,30 mg und 0,98 mg pro 100 ml und bei dem *S. fuscicollis* von 0,33 mg auf 4,25 mg/100 ml und damit auf den 8 fachen Durchschnittswert dieser Art an.

Aufgrund dieser Ergebnisse muß bei Krallenaffen ein Vitamin C-Serumspiegel von unter 0,5 mg/100 ml als Ausdruck eines primären oder sekundären Vitamin C-Mangels angesehen werden. Der Vitamin C-Gehalt einer Krallenaffendiät sollte so hoch bemessen sein, daß die Tiere Serumspiegel über 1,0 mg/100 ml halten können.

Tabelle 7

Vergleich der Vitamin C-Serumspiegel (mg/100 ml)
verschiedener Krallenaffenarten der Kolonie des
Max von Pettenkofer-Institutes.

C.jacchus

	Anzahl	$\bar{x}$	s	Bereich
Gruppe 1	19	2,56	1,07	0,38-4,30
Gruppe 2	4	1,34	0,23	1,01-1,54
Gruppe 3	5	0,47	0,66	0,03-1,60
Gruppe 1-3	28	2,01	1,24	0,03-4,30

S.fuscicollis

Gruppe 1	21	0,54	0,29	0,33-1,24
Gruppe 2	4	0,47	0,29	0,23-0,85
Gruppe 3	2	0,13	----	0,08, 0,18
Gruppe 1-3	27	0,50	0,29	0,08-1,24

S.labiatus

Gruppe 1	1	1,26		
Gruppe 3	1	0,43		

5 DISKUSSION

Der Vitamin C-Serumspiegel gibt den Vitamin C-Status von Krallenenaffen deutlich wieder. Dies wird aus dem Verlauf der Serumspiegel während der Depletionsperiode deutlich (siehe Schaubild 1). Obwohl kein Vitamin C mehr aufgenommen wurde, sank der Spiegel relativ langsam ab und blieb ab dem 28. Tag bis kurz vor dem Sichtbarwerden der ersten klinischen Symptome nach 10 Wochen auf einem Niveau von ca. 0,10 mg/100 ml. Wenn also bei *Callithrix jacchus* Serumspiegel in diesem Bereich gemessen werden, ist dies in jedem Fall ein Hinweis auf eine ungenügende Vitamin C-Versorgung oder einen stark erhöhten Bedarf des Tieres.

Umgekehrt sind hohe Spiegel ein sicheres Maß für eine ausreichende Vitamin C-Versorgung und einen normalen Bedarf. Eine Ausnahme hiervon sind die Vitamin C-Konzentrationen, die 2 Tage und 6 Tage nach Beginn der Repletion bei den Versuchstieren gemessen wurden (siehe Tabelle 1). Die Konzentrationen lagen im Normalbereich, obwohl die Tiere erst seit kurzem wieder Vitamin C erhielten. Durch den hohen Vitamin C-Gehalt der Repletionsdiät kam es im Serum zu einem raschen Konzentrationsanstieg und damit nach dem Überschreiten der Nierenschwelle zu einer schnell ansteigenden Harnausscheidung von unmetabolisiertem Vitamin C. Nach 6 Repletionstagen wurden sogar überdurchschnittlich hohe Serumwerte festgestellt. Vermutlich konnten die vollkommen Vitamin C-depletierten Affen diese großen Vitamin C-Mengen nicht sofort in die Gewebe und Organe transportieren. Erst nach 2 Wochen Repletion, am Tag 97, hatte sich wieder ein Gleichgewicht und ein normaler Vitamin C-Metabolismus eingestellt. Hohe Serumkonzentrationen sind also bei Affen,

die vollkommen depletiert waren, kein Maß für den Vitamin C-Status, sondern nur für eine ausreichende Vitamin C-Versorgung.

In Versuch 2 konnte gezeigt werden, daß die Höhe des Serumspiegels mit der Vitamin C-Menge in der Diät positiv korreliert ist (siehe Tabelle 6a und 6b). Eine erhöhte Zufuhr erzeugt auch höhere Serumspiegel. Dieser Effekt ist aber nicht direkt dosisproportional. Die Ursache dafür kann in einem veränderten Metabolismus oder in der unterschiedlichen Resorption der verschiedenen hohen Ascorbinsäuredosen liegen (HORNIG et al., 1980). Diese Autoren geben an, daß sich beim Menschen der prozentual resorbierte Anteil mit steigender Zufuhr verringert, die absolut resorbierte Menge aber zunimmt.

DE KLERK et al. (1973) empfehlen, Grüne Meerkatzen mit soviel Vitamin C zu versorgen, daß die Tiere in der Lage sind, Serumspiegel über 1,0 mg/100 ml aufrechtzuerhalten. McNEES et al. (1983) geben den Vitamin C-Normalbereich im Serum von *C. jacchus* im gleichen Bereich mit 0,5 mg bis 1,5 mg/100 ml an. Durch die Diät mit 500 ppm Vitamin C-Gehalt (Versuch 2) nahmen die Affen ca. 19 mg/kg KM Vitamin C bzw. 15 mg/kg mKM auf und konnten damit einen durchschnittlichen Serumspiegel von 1,06 mg Vitamin C/100 ml erzielen. Somit sind 500 ppm Vitamin C der Mindestgehalt einer Krallenaffendiät, die in der Lage ist, den Vitamin C-Serumspiegel im gewünschten Bereich von ca. 1,0 mg/100 ml zu halten.

LEHNER et al. (1968) geben an, daß der Vitamin C-Normalgehalt im Serum von Totenkopffaffen über 0,70 mg Vitamin C pro 100 ml liegt. Diese Autoren sowie MACHLIN et al. (1979) geben den täglichen Vitamin C-Bedarf dieser Affen mit 10 mg/kg KM an, DE KLERK et al. (1973a) dagegen mit 20 mg/kg KM. In Versuch 2 nahmen die Affen mit der Diät, die 250 ppm Vitamin C enthielt, täglich noch fast 10 mg/kg KM Vitamin C auf und erzielten damit einen durchschnittlichen Serumspiegel von 0,76 mg/100 ml. Sieht man für Totenkopffaffen und *C. jacchus* den gleichen Serumgehalt als normal an, so wäre damit auch der Bedarf gleich hoch. Der Serumspiegel läge dann auch noch innerhalb der Grenzen der Referenzangaben von McNEES et al. (1983).

ALVARES et al. (1981) ernährten Makaken mit nur 130 ppm Vitamin C im Futter und stellten bei dieser Ernährung nie Anzeichen eines Mangels fest. Dieser Vitamin C-Gehalt einer Diät wird von den Autoren als Mindestversorgung für Makaken angegeben. Für *C. jacchus* muß aber eine Diät, die 500 ppm Vitamin C enthält und durch die Serum-Vitamin C-Spiegel über 1 mg/100 ml erzielt werden können, als Minimalversorgung angesehen werden.

Nach MACHLIN et al. (1979) ist der Vitamin C-Bedarf von Rhesusaffen 10 mg/kg KM. Bei einem Körpergewicht zwischen 5 kg und 10 kg haben sie folglich einen Vitamin C-Bedarf von etwa 15 mg bis 18 mg/kg mKM. Dies entspricht etwa dem Mindestbedarf von Krallenaffen (15 mg/kg mKM), ist aber rund 4 mal weniger als ihr Optimalbedarf von 54 mg/kg mKM.

Laut KALLNER et al. (1979) beträgt der Bedarf eines gesunden, erwachsenen Menschen 100 mg Vitamin C/Tag. Dies entspricht, bei einem Körpergewicht von 75 kg (ca. 25 kg mKM), einem Bedarf von ca. 1,33 mg/kg KM oder ca. 4 mg/kg mKM. Der Minimalbedarf von *C. jacchus* liegt im Vergleich dazu mit ca. 15 mg/kg mKM fast 4 mal höher. Für Primaten generell geben HORNIG et al. (1983) einen Bedarf von 3 mg - 6 mg/kg KM und BRACK (1984) 4 mg/kg KM an. *C. jacchus* hat demgegenüber aber deutlich höhere Bedarfswerte.

McNEES et al. (1983) ermittelten bei Kolonietieren einen mittleren Vitamin C-Serumspiegel von *Callithrix jacchus* von 0,98 mg/100 ml bei einem Normalbereich von 0,5 mg - 1,5 mg/100 ml. Die Autoren versäumen es aber den Vitamin C-Gehalt ihrer Koloniediät anzugeben. Im Unterschied dazu konnte in der Zuchtkolonie (Versuch 3), in der eine Diät mit ca. 2000 ppm verfüttert wurde, ein doppelt so hoher Durchschnittswert (2,01 mg/100 ml) bei vergleichbarer Schwankungsbreite ermittelt werden. Auch die Affen aus Versuch 2 hatten bei der Diät mit 2000 ppm einen mit 2,74 mg/100 ml deutlich höheren, mittleren Vitamin C-Serumspiegel, als die Kolonietiere dieser Autoren.

Als untere Grenze des Normalbereichs müßte die Serumkonzentration definiert werden, ab der der Vitamin C-Sparmechanismus der Nierenschwelle in Funktion tritt, um eine weitere Ausscheidung zu limitieren. Bei dieser Spezies liegt die Nierenschwelle im Bereich der Vitamin C-Konzentration zwischen 0,76 mg und 1,06 mg/100 ml Serum. Somit liegt die untere Grenze des Normalbereiches dieser Affen bei etwa 1 mg/100 ml und damit doppelt so hoch wie von

McNEES et al. (1983) empfohlen. Weil Vitamin C völlig un-toxisch ist, im Serum nur physikalisch gelöst und im Körper nicht gespeichert wird, ist nicht nötig, eine obere Grenze zu definieren. Überschüssiges Vitamin C wird vom Körper metabolisiert oder unmetabolisiert ausgeschieden. Als Maximalwert wurde eine Serumkonzentration von 7,32 mg/100 ml bei einem Kontrolltier in Versuch 1 festgestellt.

Der Serumgrenzwert von 1 mg/100 ml läßt sich sehr leicht durch den Ascorbinsäurenachweis im Harn überprüfen. Wenn im Tagesharn Vitamin C-Mengen von mehr als 0,10 mg gefunden werden, dann liegt der Serumspiegel oberhalb der Nierenschwelle und damit zumindest im unteren Normalbereich. Je größer die Vitamin C-Konzentration im Tagesharn ist, desto höher liegt der Serumspiegel und desto besser ist auch die Vitamin C-Versorgung. Dieser Zusammenhang wurde auch bei Menschen beobachtet (ANGEL et al., 1975).

Kann im Tagesharn kein Vitamin C oder nur Spuren davon festgestellt werden, so bedeutet dies, daß die Serumkonzentration unterhalb des Normalwertes liegt. In diesem Fall müßte eine Bestimmung der Serumkonzentration durchgeführt werden, um den Vitamin C-Status genauer zu ermitteln.

Ein Serumgehalt unter 0,50 mg/100 ml ist, bei ausreichender Versorgung, auf jeden Fall ein Ausdruck eines erhöhten Vitamin C-Bedarfs und muß der Anlaß für die Suche nach dessen Ursachen sein. Wird ein Wert unter 0,20 mg/100 ml im Serum gefunden, muß sofort therapeutisch eingegriffen werden, um die Manifestation einer Vitamin C-Mangelerkrankung zu verhindern. Über die Dauer des Mangels gibt ein derartiger Serumgehalt keine Auskunft.

Nach einem Monat Vitamin C-Depletion konnten McINTOSH et al. (1981) im 7-Stunden-Harn von 4 *Callithrix jacchus* noch eine Vitamin C-Konzentration von 3,2 mg - 5,0 mg/100 ml finden. Dies entspräche umgerechnet einer Vitamin C-Ausscheidung zwischen 0,38 mg und 1,05 mg/Tag. Im Vergleich dazu schieden die Versuchsaffen von Versuch 1 in der Depletionsphase schon nach 3 Tagen nur noch Spuren von Vitamin C im Harn aus (siehe Tabelle 2) und in Versuch 2 konnte bei den Affen, deren Diät 500 ppm Vitamin C enthielt, noch eine durchschnittliche Vitamin C-Menge von ca. 0,5 mg bis 0,9 mg im Tagesharn nachgewiesen werden. Damit kann mit Sicherheit angenommen werden, daß die Affen im Versuch dieser Autoren noch Serumspiegel oberhalb der Nierenschwelle besaßen und somit ihre Diät nicht Vitamin C-frei war. Die Autoren konnten deshalb auch trotz 4 Monaten "Depletion" keine Anzeichen eines Vitamin C-Mangels an den Affen feststellen. Die einmalige Bestimmung der Vitamin C-Menge im Harn ist auch nicht dazu geeignet, Rückschlüsse auf den Vitamin C-Gehalt der Diät zu ziehen. Denn diese Autoren nehmen einfach an, daß, wenn im 7-Stunden Harn kaum Vitamin C enthalten ist, die Diät Vitamin C-frei sein muß. Damit ist mit großer Sicherheit anzunehmen, daß ihre Versuchsgruppe zwar einen niedrigeren Vitamin C-Status als die Kontrollgruppe hatte, aber zu keinem Zeitpunkt wirklich Vitamin C-depletiert war.

Wie in Versuch 1 demonstriert werden konnte, treten an depletierten Affen erste Symptome eines Vitamin C-Mangels erst nach ca. 10 Wochen Vitamin C-freier Ernährung auf.

In einer größeren Kolonie, in der ein Einzeltier nie so gut überwacht werden kann, werden erste Anzeichen einer Krankheit oder eines Mangels leicht übersehen (siehe Versuch 3). Um so wichtiger ist es, wenn ein Mangel oder eine Erkrankung erkannt wird, sofort therapeutisch einzugreifen.

Während der Vitamin C-Depletion fielen erstaunlicherweise auch die Serum-Vitamin C-Konzentrationen beider Kontrollaffen, bis Tag 13 parallel zu denen der Versuchsaffen, ab (siehe Tabelle 1 und Schaubild 1). Es kann vermutet werden, daß durch die versuchsbedingt häufigeren Arbeiten und Anwesenheit im Raum bei allen Tieren ein Streßzustand entstand, der zu einem erhöhten Vitamin C-Verbrauch führte. Damit kam es wahrscheinlich auch bei den Versuchsaffen zu einem beschleunigten Absinken der Serumkonzentrationen und damit zu einem schnelleren Verlust an Körper-Vitamin C-Vorräten, als es ohne diese zusätzliche Belastung geschehen wäre. Nachdem kein Harn mehr gesammelt wurde und ein sehr regelmäßiger und ruhiger Tagesablauf eingehalten werden konnte, stiegen die Serumwerte der 2 Kontrolltiere wieder auf ein hohes Niveau an.

Um kranke und Vitamin C-verarmte Tiere wieder mit ausreichend Vitamin C zu versorgen, gibt es mehrere Wege. Ein hoher Vitamin C-Gehalt der Basisdiät hat vor allem vorbeugende Wirkung. Bei erkrankten Tieren ist häufig der Futterverzehr reduziert oder die Resorption gestört (Durchfall), so daß sie nicht mehr genügend Vitamine aufnehmen können. Die Gabe von stark mit Vitamin C angereichertem Brei (siehe Versuch 3) kann die Versorgung sehr gut verbessern. Einmalige hohe, orale Vitamin C-Gaben (siehe Versuch 2) werden schlechter verwertet als die kontinuierliche Zufuhr geringerer Mengen.

Früchte bringen zwar Abwechslung in die Ernährung, ihr Vitamin C-Gehalt ist allerdings sehr von der Fruchtart, ihrem Frische- und Reifezustand abhängig (DE KLERK et al., 1973a). Sie verdrängen durch ihren geringen TS-Anteil die Basisdiät und verringern somit die absolut verzehrte Futtertrockensubstanz- und Vitamin C-Menge. Werden im gleichen Käfig mehrere Affen zusammen gehalten, kann es bei freier Futterwahl und, durch Rangordnung bedingt, zu einseitiger Aufnahme und Präferenz einer Diätkomponente kommen. Somit ist eine genaue Abschätzung oder Kontrolle der Vitamin C-Aufnahme nur sehr schwer möglich.

Im 3. Versuch konnten zwischen den beiden Krallenaffenspezies *Callithrix jacchus* und *Saguinus fuscicollis* trotz gleicher Ernährung und Haltung deutliche Unterschiede im Vitamin C-Serumspiegel festgestellt werden. *Callithrix jacchus* hatte gegenüber der anderen Art ca. 4 mal höhere durchschnittliche Serumspiegel (2,01 mg gegenüber 0,50 mg/100 ml, siehe Tabelle 7). Worauf dieser Speziesunterschied beruht, könnte erst durch eine weitergehende Untersuchung geklärt werden. Tiere der Spezies *S. fuscicollis* sind sehr viel furchtsamer und scheuer und daher streßanfälliger als *C. jacchus*, was eine Ursache für den erhöhten Bedarf dieser Affenart sein könnte.

Saguinus fuscicollis und auch andere *Saguinus*-Spezies bereiten in Koloniehaltung Schwierigkeiten, da sie gelegentlich am "Wasting Marmoset Syndrom" (WMS) erkranken. Die Ursache für diese nur unzureichend definierte Erkrankung, die besonders junge Erwachsene befällt, ist trotz Auswertung von umfangreichen, detaillierten Befragungen von Koloniebetreuern (MORIN, 1981), noch nicht geklärt.

Die Symptomatik umfaßt Bewegungsunlust, verbunden mit steifem Gang und Muskelatrophie der Hintergliedmaßen, sowie Haarausfall, besonders am Schwanz, Diarrhoe, Anämie, Kümern und Gewichtsverlust. Klinischer Vitamin C-Mangel zeigt eine in mancher Hinsicht ähnliche Symptomatik und kann deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit als eine der Ursachen für das WMS betrachtet werden.

Die Ursache für den unerwarteten Tod zweier Affen 2 Tage nach beendeter Depletion konnte durch die pathologische Untersuchung nicht geklärt werden. Möglicherweise war eine Störung des Elektrolythaushalts im Sinne einer intrazellulären Hyperkalie oder einer Hypokaliämie die Todesursache. Die Organe zeigten keine spezifischen Veränderungen, die eindeutig mit einem Vitamin C-Mangel in Verbindung zu bringen sind.

Die wichtigsten pathologischen Befunde bei dem Affen Bodo waren Haarausfall am Schwanz, Linksherzhypertrophie und hochgradige Leberverfettung. Bei dem Affen Volker konnten als wichtigste Befunde vollkommener Verlust aller Unterkieferschneidezähne, Herzhypertrophie, Milzhypoplasie, Leberverfettung, disseminierte Pyelonephritis und ein subkutanes und intraskrotales Hämatom im rechten Skrotum festgestellt werden.

Mit einiger Sicherheit kann angenommen werden, daß die 12-wöchige Vitamin C-Depletion ein prädisponierender Faktor für den Tod der Affen war. Ob jedoch die plötzliche Zufuhr großer Vitamin C-Mengen mit der Repletionsdiät ursächlich mit dem Tod der Tiere in Verbindung zu bringen ist, läßt sich nicht sagen.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Vitamin C ist für Krallenaffen ein essentieller Nahrungsbestandteil. Wie die anderen echten Affen können sie Vitamin C nicht selbst in der Leber synthetisieren und erkranken deshalb bei ungenügender oder fehlender Zufuhr an Vitamin C-Mangel. Sie können dabei monatelang in einem äußerlich nicht erkennbaren Vitamin C-Mangelzustand sein. Erst nachdem die Vitamin C-Körperreserven fast vollständig verbraucht sind, treten erste klinische Symptome auf. Aufgrund der ähnlichen Symptomatik kann vermutet werden, daß Vitamin C-Mangel an der Entstehung des "Wasting Marmoset Syndroms" mit- oder sogar ursächlich beteiligt ist.

Wie gezeigt werden konnte, sind ca. 15 mg Vitamin C/kg mKM oder ca. 20 mg/kg KM für gesunde, adulte männliche *Callithrix jacchus*, die an bestehende Versuchs- und Haltungsbedingungen gewöhnt sind, der Minimalbedarf. Durch diese Vitamin C-Versorgung waren die Affen in der Lage, ausreichend hohe Serumspiegel oberhalb der Vitamin C-Nierenschwelle (ca. 1 mg/100 ml) zu halten. Der von McNEES et al. (1983) festgelegte untere Normalwert der Serumkonzentration von 0,5 mg/100 ml Serum muß deshalb nach oben korrigiert werden.

Die optimale, tägliche Versorgung dieser Art ist mit ca. 50 mg - 60 mg Vitamin C/kg mKM gegeben, was etwa 60 mg - 70mg/kg KM entspricht. Eine Koloniediät, die 2000 ppm Vitamin C enthält, erfüllt diesen Anspruch. Für *Saguinus fuscicollis* und andere, psychisch weniger "robuste" Arten, ist eine doppelt so hohe Vitamin C-Versorgung mit etwa 100 mg - 120 mg Vitamin C/kg mKM (ca. 120 mg - 140 mg/kg KM) erforderlich, um die Tiere optimal mit Vitamin C zu ernähren. Ihre Diät sollte deshalb ca. 4000 ppm Vitamin C enthalten.

Es hat sich gezeigt, daß die Bestimmung des Vitamin C-Serumspiegels Rückschlüsse auf den Vitamin C-Status und die Vitamin C-Versorgung von Krallenaffen zuläßt und nicht nur die kürzlich mit der Nahrung zugeführte Vitamin C-Menge widerspiegelt.

Es konnte demonstriert werden, daß die Vitamin C-Harnanalyse eine relativ einfache und sichere Methode zur Überprüfung der Vitamin C-Versorgung und des Vitamin C-Status von Krallenaffen ist. Wenn der Nachweis im Tagesharn positiv ausfällt, so ist die Serumkonzentration normal und die Versorgung ausreichend. Wird kein Vitamin C gefunden, muß die Vitamin C-Versorgung überprüft und das Tier genauer untersucht werden.

Gegenüber anderen echten Affen und dem Menschen haben Krallenaffen der Spezies *C. jacchus* einen mehrfach höheren Vitamin C-Bedarf. Auch zwischen den Spezies *C. jacchus* und *S. fuscicollis* scheint es Unterschiede im Vitamin C-Stoffwechsel und Bedarf zu geben, die aber noch genauerer Untersuchung bedürfen.

Da der Streß, dem Krallenaffen bei Haltung in Gefangenschaft ausgesetzt sind, ihren Vitamin C-Bedarf ansteigen läßt, muß diesem Umstand durch ein hohes Vitamin C-Angebot in der Diät Rechnung getragen werden. Eine Koloniediät muß darüberhinaus eine Sicherheitsreserve für Jungtiere und für kranke, gravide und laktierende Tiere beinhalten. Neben einer ausreichenden Vitamin C-Zufuhr sollte in jeder Krallenaffenhaltung eine Optimierung der Haltungs- und Umweltbedingungen angestrebt werden, um den stressbedingten Mehrbedarf an Vitamin C zu verringern.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Durch eine 12 wöchige Vitamin C-Depletion, mit anschließender Repletion, konnte bei adulten männlichen Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus* ein Vitamin C-Mangel erzeugt und seine Symptomatik erforscht werden. Damit wurde nachgewiesen, daß Vitamin C für sie ein essentieller Nahrungsbestandteil ist. Die Versuchsergebnisse lassen außerdem die Vermutung zu, daß Vitamin C-Mangel an der Entstehung des "Wasting Marmoset Syndroms" beteiligt ist.

Als untere Grenze des Normalbereiches der Serum-Vitamin C-Konzentration dieser Art wurde die Nierenschwelle definiert, die bei ca. 1 mg/100 ml liegt. Bei der Untersuchung von 28 Seren von *Callithrix jacchus* wurde ein Mittelwert von ca. 2 mg Vitamin C/100 ml gefunden. Es konnte gezeigt werden, daß der Vitamin C-Nachweis im Harn ein geeigneter Maßstab zur Überprüfung des Vitamin C-Status dieser Affenart ist.

Der Minimalbedarf wurde für gesunde adulte Tiere mit ca. 15 mg Vitamin C/kg metabolischer Körpermasse (mKM) und Tag ermittelt (500 ppm in der Diät). Die optimale Versorgung ist mit ca. 50 mg - 60 mg Vitamin C/kg mKM und Tag gegeben (2000 ppm in der Diät).

Es wurde festgestellt, daß die Art *Saguinus fuscicollis* für eine optimale Vitamin C-Versorgung etwa die doppelte Vitamin C-Menge benötigt, und daß deutliche Unterschiede im Vitamin C-Stoffwechsel dieser beiden Arten bestehen.

Außerdem konnte deutlich gezeigt werden, daß kranke und gestreßte Tiere einen erhöhten Vitamin C-Bedarf haben.

SUMMARY

Studies on the ascorbic acid requirement of adult marmosets (*Callithrix jacchus*).

Ascorbic acid (AA) deficiency was induced and the symptoms of this disease were investigated in adult male common marmosets in a 12 week depletion period, followed by 4 weeks repletion. It was found, that ascorbic acid is an essential nutrient for Callithricidae. From the results it can be concluded that AA deficiency is one reason to the development of the Wasting Marmoset Syndrome.

The minimum level of the serum AA concentration is defined as the kidney threshold value for ascorbic acid excretion. This concentration is approximately 1 mg AA/100 ml. In a trial with 28 *C. jacchus*, the mean serum concentration was about 2 mg AA/100 ml. It could be demonstrated that the AA analysis of urine is a reliable indicator for the evaluation of the status of these monkeys.

The minimal daily vitamin C requirement for healthy male animals is approximately 15 mg ascorbic acid/kg metabolic bodymass (mbm) or 500 ppm in the diet, respectively.

Under experimental conditions and when held in breeding colonies, the optimal daily AA supply for *C. jacchus* should be 50 mg to 60 mg AA/kg mbm (2000 ppm in the diet). It was also found that the species *Saguinus fuscicollis* needs twice as much AA for an optimal daily supply and that there is a difference in AA metabolism in the two species.

Furthermore, it could be demonstrated that disease or stress increases the daily ascorbic acid requirement of these animals.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- ALVARES, O., L.C. ALTMAN, S. SPRINGMEYER, W. ENSINGN und K. JACOBSON (1981):
The effect of subclinical ascorbate deficiency on periodontal health in nonhuman primates.
J.of Periodontal Res. 16, 628-636
- ANGEL, J., B. ALFRED, J. LEICHTER, M. LEE und L. MARCHANT (1975):
Effect of oral administration of large quantities of ascorbic acid on blood levels and urinary excretion of ascorbic acid in man.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 45, 237-243
- BAKER, M.E., M.D. HODGES, J. HOOD, H.D. SAUBERLICH und S.C. MARCH (1969):
Metabolism of ascorbic-1-¹⁴C-acid in experimental human scurvy.
Am. J. Clin. Nutr. 22, 549-558
- BAKER, E.M., R.E. HODGES, J. HOOD, H.D. SAUBERLICH, S.C. MARCH und J.E. CANHAM (1971):
Metabolism of 1-¹⁴C-and ³H-labelled L-ascorbic acid in human scurvy.
Am. J. Clin. Nutr. 24, 444-454
- BRACK, M. (1984):
Krankheiten nicht humaner Primaten, Skorbut.
Kleintierpraxis 29, 385-388
- BRUHIN, H. (1979):
Callithrix jacchus, Marmoset. Ein neues Versuchsmodell.
Literaturübersicht.
Z.Versuchstierk. 21, 209-221
- DE KLERK, W.A., J.P. DU PLESSIS, J.J. VAN DER WATT, A. DE JAGER und N.F. LAUBSCHER (1973a):
Vitamin C-requirements of the vervet monkey under experimental conditions.
S. Afr. Med. J. 47, 705-713.

- DE KLERK, W.A., J.P. KOTZE, I.V. MENNE, M.J.A. MATTHEWS
and T. McDONALD (1973b):
The influence of various dietary ascorbic acid levels on
serum ascorbic acid and serum cholesterol values of the
Baboon during captivity.
S. Afr. Med. J. 47, 1503-1510
- DEMARAY, S.Y., N.A. ALTMAN und T.L. FERELL (1978):
Suspected ascorbic acid deficiency in a colony of Squirrel
Monkeys.
Lab. Animal Sci. 28 (4), 457-460
- ELLIOT, O., N.Y. YESS und D.M. HEGSTED (1963):
Biosynthesis of ascorbic acid in the tree shrew
and slow loris.
Nature 212, 739-740
- FLURER, C. (1985):
Persönliche Mitteilung.
- GINTER, E., O. CERNA, J. BUDLOVSKY, V. BALÁZ, F. HRUBÁ
F. ROCA und E. SASKO (1977):
Effect of ascorbic acid on plasma cholesterol in
humans in a long-term experiment.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 47, 123-134
- HORNIG, D., B. GLATTHAAR und U. MOSER (1983):
General aspects of ascorbic acid function and metabolism.
In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings.
Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983.
The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984.
- HORNIG, D., J.P. VUILLEUMIER und D. HARTMANN (1980):
Absorption of large, single, intakes of ascorbic acid.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 50, 309-314
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN und D. HORNIG (1977):
On the absorption of ascorbic acid in man.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 47, 383-388
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN und D. HORNIG (1979):
Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid
in man.
Am. J. of Clin. Nutr. 32, 530-539
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN und D.H. HORNIG (1981):
On the requirements of ascorbic acid in man:
Steady-state turnover and body pool in smokers.
Am. J. of Clin. Nutr. 34, 1347-1355

- KEATING, R.W. und P.R. HADDAD (1982):
Simultaneous determination of ascorbic acid and
dehydroascorbic acid by reversed-phase ion-pair-high-
performance liquid chromatography with pre-column
derivatisation.
J. of Chromatography 245, 249-255
- KESSLER, M.J. (1980):
Cephalohematomas due to suspected ascorbic acid
deficiency in young Squirrel Monkeys
(*Saimiri sciureus*).
J. med. Primat. 9, 314-318
- LEHNER, N.D.M., B.C. BULLOCK und T.B. CLARKSON (1968):
Ascorbic acid deficiency in the Squirrel Monkey.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 512-514
- MACHLIN, L.J., F. GARCIA, W. KUENZIG und M. BRIN (1979):
Antiscorbutic activity of ascorbic acid phosphate in
the Rhesus Monkey and the Guinea Pig.
Am. J. Clin. Nutr. 32, 325-331
- MAJUMDAR, S.K., S. PATEL, G.K. SHAW, P.O'GORMAN und A.D.
TOMPSON (1981):
Vitamin C-utilisation status of chronic alcoholic
patients after short-term intravenous therapy.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 51, 274-278
- McINTOSH, G.H., W. RICHMOND und R.L. HIMSWORTH (1981):
Vitamin C-deficiency and hypercholesterolaemia in
marmoset monkeys.
Nutr. Rep. Int. 23, (2) 237-243
- McNEES, D.W., R.W. LEWIS, B.J. PONZIO, F.J. STEIN, R.F. SIS,
und B.M. LEVY (1983):
Blood vitamin values of common Marmosets
(*Callithrix jacchus*).
Primates 24, (2) 266-272
- MORIN, M.L. (1981):
A different aproach in examining a wasting syndrome.
Lab. Animal Science 31, 52-55
- MURPHY, B.L., D.H. KRUSHAK, J.E. MAYNARD, D.W. BRADLEY (1974):
Ascorbic acid (Vitamin C) and its effects on Parainfluenza
Type III Virus infection in Cotton Topped Marmosets.
Lab. Animal Sci. 24 (1), 229-232

- NAPIER, J.R., und P.H. NAPIER (1967):
A Handbook of Living Primates.
Academic Press Inc., 1967
- PACHLA, L.A. und C.L. KISSINGER (1976):
Determination of ascorbic acid in foodstuffs,
pharmaceuticals and body fluids by liquid
chromatography with electrochemical detection.
Anal. Chemistry 48, (25) 364-367
- RICHTER, C.B., N.D.M. LEHNER und R.V. HENRICKSON (1984):
Primates.
Department of Health and Human Services,
National Institutes of Health.
Academic Press Inc., 1984
- SAUBERLICH, H.E., M.D. GREEN und S.T.OMAYE (1982):
Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid.
In: Ascorbic Acid Metabolism and Uses
American Chemical Soc. Chapter 9, 1982
- SCHÖEP, W., J.P. VUILLEUMIER, D. GYSEL und D. HESS (1983):
Determination of ascorbic acid in body fluids,
tissues and feedstuffs.
In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings.
Workshop Skjoldenaesholm, Sept.1983.
The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984.
- TILLOTSON, J.A. (1978):
Ascorbate metabolism in the trained monkey.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 48, 374-381
- TILLOTSON, J.A. und R. O'CONNOR (1980):
Ascorbic acid requirements of the trained monkey as
determined by blood ascorbate levels.
Int. J. of Vit. Nutr. Res. 50, 172-178
- TILLOTSON, J.A. und R. O'CONNOR (1981):
Steady-state ascorbate metabolism in the monkey.
Am. J. of Clin. Nutr. 34, 2397-2404
- TILLOTSON, J.A. und E.L. MCGOWN (1981):
The relationship of the urinary ascorbate metabolites
to specific levels of ascorbate supplementation
in the monkey.
Am. J. of Clin. Nutr. 34, 2405-2411

TSAO, C.S. und S.L. SALIMI (1981):

Ultramicromethod for the measurement of ascorbic acid in plasma and white blood cells by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. of Chromatography 224, 477-480

TURNBULL, D.J., J.D. SUDDUTH, H.E. SAUBERLICH und S.T. OMAYE (1981):

Depletion and repletion of ascorbic acid in the Rhesus Monkey. Relationship between ascorbic acid concentrations in blood components with total body pool and liver concentrations of ascorbic acid. Int. J. of Vit. Nutr. Res. 51, 47-53

YARBROUGH, L.W., J.L. TOLLET, R.P. MONTREY und D.J. BEATTIE (1984):

Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus*). Lab. Animal Sci. 3, 276-280

Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich sehr für die Überlassung des Themas und die stets freundliche Unterstützung meiner Arbeit.

Frau Dr. C. Flurer möchte ich besonders für die Betreuung und Hilfe bei der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. F. Deinhard danke ich sehr für die Möglichkeit, mit Tieren des Max von Pettenkofer-Institutes für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München, Versuche durchführen zu können.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. rer. nat., Dr. med. vet. habil. W. Rambeck für seine freundliche und konstruktive Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Gockel danke ich sehr für seine pathologisch-histologischen Untersuchungen.

Frau A. Wetzel und Frau A. Bachhuber danke ich sehr für ihr Interesse und ihre Hilfe bei technischen Problemen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn F. Schweigert und Dr. G. Krommer für ihre hilfsbereite Unterstützung und Beratung während der Durchführung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Manfred Josef Kern

02.03. 1958	geboren in Ulm/Donau Vater : Franz Kern Mutter: Gertrud Kern geb. Schultheiß
1965 - 1972	Besuch der Grund- und Hauptschule in Erbach
1972 - 1978	Besuch des staatl. Aufbau- gymnasiums Saulgau
02.05. 1978	Abitur
1978 - 1979	Wehrdienst
1979 - 1984	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians- Universität München
15.11. 1984	Staatsexamen
seit 15.11. 1984	Anfertigung der Dissertation am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München
01.03.-31.08. 1985	Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfskraft am obigen Institut
13.03. 1985	Approbation als Tierarzt
28.08. 1985	Heirat mit der Tierärztin Renate Kern geb. Reitelshöfer

